ФЕДЕРАЛЬНОЕ ГОСУДАРСТВЕННОЕ
БЮДЖЕТНОЕ УЧРЕЖДЕНИЕ НАУКИ
ИНСТИТУТ ОБЩЕЙ И ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЙ БИОЛОГИИ
СИБИРСКОЕ ОТДЕЛЕНИЕ РОССИЙСКОЙ АКАДЕМИИ НАУК

На правах рукописи

Муруев Баир Андреевич

АДАПТОГЕННЫЕ СВОЙСТВА ЭКСТРАКТА СУХОГО «ЦЕНТАФИТ»

14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

ДИССЕРТАЦИЯ
на соискание ученой степени
кандидата медицинских наук

Научный руководитель:
доктор биологических наук, профессор
Шантанова Лариса Николаевна

Улан-Удэ – 2019

ОГЛАВЛЕНИЕ

Введение ……..... 5

ГЛАВА 1 АДАПТАЦИЯ К СТРЕССУ И СРЕДСТВА, ОБЛАДАЮЩИЕ АДАПТОГЕННОЙ АКТИВНОСТЬЮ.... 12

1.1 Сведения об адаптации и стрессе..... 12

1.2 Растительные адаптогены и экдистероиды..... 25

1.3 Данные о растениях, входящих в состав экстракта сухого «Центафит»..... 35

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ..... 41

2.1 Характеристика исследуемого средства и модельные системы..... 41

2.2 Условия проведения эксперимента и лабораторные животные..... 42

2.3 Модели и методы исследования..... 42

ГЛАВА 3 ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРА АДАПТОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА СУХОГО «ЦЕНТАФИТ»..... 49

3.1 Определение острой токсичности экстракта сухого «Центафит»..... 49

3.2 Оценка антигипоксической активности экстракта сухого «Центафит»..... 50

3.2.1 Влияние на устойчивость к острой гемической гипоксии..... 50

3.2.2 Влияние на устойчивость к острой гистотоксической гипоксии..... 51

3.2.3 Влияние на устойчивость к острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией 52

3.3 Исследование влияния экстракта сухого «Центафит» на устойчивость к интенсивным физическим нагрузкам..... 54

3.4 Изучение анаболического действия экстракта сухого «Центафит»..... 60
3.5 Исследование стресс-протективной активности экстракта сухого «Центафит»..... 63
3.5.1 Влияние на устойчивость к острому иммобилизационному стрессу..... 63
3.5.2 Влияние на устойчивость к хроническому эмоциональному стрессу..... 67
ГЛАВА 4 ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТА СУХОГО «ЦЕНТАФИТ» НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ..... 75
4.1 Влияние на поведенческую активность белых крыс в тесте «открытое поле»..... 75
4.2 Влияние на поведенческую активность белых крыс в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт»..... 77
4.3 Влияние на поведенческую активность белых крыс в тесте «светлая/темная камера»..... 79
4.4 Влияние на выработку условной реакции пассивного избегания у белых крыс..... 80
4.5 Влияние на поведение белых крыс в тесте «конфликтной ситуации по *Vogel»*..... 83
4.6 Изучение влияния на ГАМК-ергическую систему 84
ГЛАВА 5 ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИХ СВОЙСТВ ЭКСТРАКТА СУХОГО «ЦЕНТАФИТ»..... 86
5.1 Влияние на гуморальное звено иммунного ответа..... 86
5.2 Влияние на клеточное звено иммунитета..... 87
5.3 Влияние на состояние макрофагального звена иммунитета 88
ГЛАВА 6 ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ МЕХАНИЗМОВ АДАПТОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ЭКСТРАКТА СУХОГО «ЦЕНТАФИТ»..... 90

6.1	Исследование мембраностабилизирующей активности в условиях *in vitro*	90
6.2	Исследование антиоксидантной активности в условиях *in vitro*.....	92
6.2.1	Оценка антиоксидантной активности с применением желточных липопротеидов.....	92
6.2.2	Оценка антиоксидантной активности по степени его влияния на динамику перекисной деструкции β-каротина	93
6.2.3	Исследование антирадикальной активности.....	93
ГЛАВА 7	ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ.....	96
	ЗАКЛЮЧЕНИЕ.....	104
	ВЫВОДЫ.....	106
	СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ.....	107
	СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ.....	134

Введение

Актуальность темы исследования. В настоящее время основными причинами инвалидизации и преждевременной смертности в индустриально развитых странах являются хронические стресс-индуцированные патологические состояния, приводящие к сердечно-сосудистым и онкологическим заболеваниям, сахарному диабету, нарушению иммунного статуса, депрессивным состояниям и др. (Глебов и др., 2013; Lederbogen et al., 2011; Joëls et al., 2012). Так, по данным ВОЗ в настоящее время более 400 млн. человек в мире страдают различными нервно-психическими заболеваниями, вызванным хроническим стрессом. Прогнозируется, что указанные заболевания к 2020 году будут второй по значимости причиной инвалидизации населения индустриально развитых стран, что представляет большую социально-экономическую проблему (Любченко, Столярова, 2016; Lucassen et al., 2014). Установлено, что при хроническом стрессе только 10% населения переживают его без потерь для здоровья, а у 25% на его фоне возникают различные патологические состояния и соматоформные расстройства (Изатулин, 2009).

Возможность повышения неспецифической сопротивляемости организма к различным повреждающим факторам с помощью фармакологических средств, названных адаптогенами, доказал в середине прошлого столетия советский ученый, профессор Н.В. Лазарев (1947). Наиболее широкое применение имеют адаптогены растительного происхождения, поскольку биологически активные вещества, получаемые из растений, близки эндогенным соединениям организма, в отличие от синтетических веществ. Они обладают широким спектром биологического действия, действуют более физиологично, без побочных негативных реакций, адекватно влияют на функциональное состояние клеток, не вызывая привыкания и развития лекарственной зависимости (Шабанов, 2003; Аксиненко, 2011).

Имея тысячелетнюю историю применения в традиционной и народной медицине, растительные адаптогены, такие как препараты женьшеня, элеутерококка, левзеи и др., стали широко использоваться в клинической практике только в середине прошлого столетия. В настоящее время в практической медицине применяются в основном однокомпонентные препараты (Барнаулов, Осипова, 2012; Куркин и др., 2014), тогда как в традиционной тибетской медицине используются преимущественно многокомпонентные средства. Это связано с тем, что болезнь в тибетской медицине рассматривается как заболевание всего организма и действие лекарства направлено не только на очаг заболевания, но и на повышение защитных функций и неспецифической сопротивляемости организма в целом. При этом у многокомпонентных препаратов наибольший терапевтический эффект достигается за счет концепции скоординированных эффектов, благодаря чему одни ингредиенты эффективны для лечения заболевания, а другие модулируют функцию этих активных компонентов (Николаев, 2008, 2012; Wagner et al., 2009; Асеева и др., 2012). В связи с этим в Институте общей и экспериментальной биологии СО РАН разработан экстракт сухой на основе сырья следующих видов растений: *Serratula centauroides* L., *Echinacea purpurea* L. Moench, *Rosa spp.*, *Inula helenium* L., *Bergenia crassifolia* L. Fritsch., условно названный «Центафит».

Степень разработанности темы исследования. В «Регистре лекарственных средств России» (2018) зарегистрированы более 600 лекарственных препаратов на растительной основе, в Российской Государственной фармакопее (XI) присутствует 83 статьи, описывающих 119 видов растений, из которых только 4 отнесены к группе тонизирующих препаратов: *Aralia elata* (Miq.) Seem; *Panax ginseng* C. A. Mey.; *Rhodiola rosea* L.; *Schisandra chinensis* (Turcz.) Baill (Shikov et al., 2014). Научные исследования растительных тонизирующих средств начались только с середины 20 века, когда в СССР 4 марта 1943 года было подписано Распоряжение Совета народных комиссаров № 4654-р «… изучать лимонник

китайский с целью поиска тонизирующих веществ для солдат, так и для лиц, работающих в оборонной промышленности во время Второй мировой войны» (Жестяников, 1945). Тогда впервые были созданы лаборатории, в которых проводилось исследование тонизирующих растений, применяемых в традиционных восточных системах: женьшеня, элеутерококка колючего, аралии маньчжурской, золотого корня, левзеи сафлоровидной (Лазарев и др., 1959; Брехман, 1968; Дардымов, 1976; Саратиков, 2004; Яременко, 2005, 2008; Арушанян, 2008 и др.). Позже научное исследование растительных адаптогенов было начато за рубежом (Perfumi et al., 2007; Panossian et al., 2008, 2009, 2010; Hung et al., 2011 и др.). Однако до настоящего времени не до конца изучены механизмы общетонизирующего действия растительных адаптогенов при астенических состояниях, соматических заболеваниях и на фоне хронического стресса. Поэтому дальнейшие исследования будут способствовать разработке новых безопасных и эффективных растительных адаптогенов, предназначенных для повышения неспецифической резистентности организма.

Цель исследования – определить спектр адаптогенной активности, фармакотерапевтической эффективности и основные механизмы действия экстракта сухого «Центафит» при стресс-индуцированных патологических состояниях.

Для достижения указанной цели необходимо было решить следующие **задачи:**

1) определить влияние «Центафита» на устойчивость животных к гипоксии, острому иммобилизационному стрессу, хроническому эмоциональному стрессу и интенсивным физическим нагрузкам;

2) изучить влияние «Центафита» на функциональное состояние центральной нервной системы;

3) оценить фармакотерапевтическую эффективность испытуемого фитоэкстракта при иммуносупрессивном состоянии;

4) определить основные механизмы адаптогенного действия «Центафита».

Научная новизна. Впервые проведено исследование адаптогенных свойств нового комплексного растительного средства «Центафит» при стресс-индуцированных состояниях. Установлено, что испытуемое фитосредство в экспериментально-терапевтических дозах 100, 150 и 200 мг/кг повышает неспецифическую сопротивляемость организма лабораторных животных к острому и хроническому стрессу, интенсивным физическим нагрузкам, гипоксии различного генеза. Исследуемое средство повышает ориентировочно-исследовательскую активность, уменьшает вегетативные проявления реакции тревоги, а также ускоряет скорость выработки условных рефлексов. На фоне азатиоприновой иммуносупрессии «Центафит» обладает выраженными иммуномодулирующими свойствами. При этом активность «Центафита» в указанных дозах превосходила таковую у препарата сравнения экстракта левзеи сафлоровидной в изоэффективной дозе.

Установлено, что центральные механизмы адаптогенного действия «Центафита» связаны с ограничением гиперактивации центральных стресс-реализующих систем и активацией стресс-лимитирующих тормозных систем. Наряду с центральными механизмами, периферические стресс-лимитирующие системы направлены в основном на повышение устойчивости клеточных структур к повреждающему действию продуктов свободнорадикального окисления, а также повышению энергетического потенциала клеток при экстремальных воздействиях благодаря активации ферментных систем дыхательной цепи митохондрий и стимуляции аэробного ресинтеза АТФ при экстремальных воздействиях.

Практическая значимость. Выявленные адаптогенные свойства комплексного экстракта «Центафит» представляют несомненный интерес для его внедрения в клиническую практику в качестве средства, повышающего неспецифическую сопротивляемость организма к широкому спектру

экстремальных воздействий. Экспериментальные данные и материалы диссертационной работы применяются в учебном процессе на кафедре фармакологии, клинической фармакологии и фитотерапии медицинского института ФГБОУ ВО «Бурятский государственный университет имени Доржи Банзарова» Министерства науки и высшего образования РФ (акт внедрения от 02.09.2019 г.). На способ получения экстракта сухого «Центафит», обладающего антигипоксической активностью, получен патент РФ (Патент № 0002669365; заявл. 13.06.2017; опубл. 13.10.2018, бюлл. № 29).

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Экстракт сухой «Центафит» обладает широким спектром адаптогенной активности, повышает устойчивость организма животных к гипоксии различного генеза, действию острого и хронического эмоционального стресса, интенсивным физическим нагрузкам.

2. Исследуемое средство повышает двигательную и ориентировочно-исследовательскую активность, уменьшает вегетативные проявления реакции тревоги и эмоциональности, ускоряет скорость выработки условных рефлексов и обладает антидепрессивным действием при хроническом стрессе.

3. «Центафит» проявляет иммуномодулирующие свойства на фоне иммуносупрессивного состояния, вызванного азатиоприном, а также оказывает анаболическое действие.

4. Центральные механизмы стресс-протективного влияния «Центафита» обусловлены оптимизацией баланса стресс-реализующих и стресс-лимитирующих систем.

5. Молекулярно-клеточные механизмы его адаптогенного действия связаны с повышением энергетического потенциала клеток, ингибированием процессов свободнорадикального окисления биомакромолекул со стабилизацией мембранных структур клеток и повышением их функциональной активности.

Апробация материалов диссертации. Материалы диссертации были доложены и обсуждены:

– на ежегодных научно-практических конференциях ИОЭБ СО РАН (Улан-Удэ, 2016-2019);

– XII Международном симпозиуме «Новые и нетрадиционные растения и перспективы их использования» (Москва-Пущино, 2017);

– III Международной научно-практической конференции «Курортная база и природные лечебно-оздоровительные местности Тувы и сопредельных регионов» (Кызыл, 2017);

– 8th International Conference of Integrated Traditional Medicine (Ulan-Bator, 2017);

– II Конгресс по традиционной медицине стран ШОС/БРИКС/ЕАЭС (Москва, 2017);

– XIV Конгресс международной ассоциации морфологов (Астрахань, 2018);

– IX International research to practice conference «Traditional medicine: ways of consolidation with modern health care» (Ulan-Ude, 2019).

Личный вклад автора. Автором диссертационной работы проведен поиск и анализ данных по теме, осуществлено планирование экспериментов, сбор данных; проведены фармакологические исследования полученного средства. Согласно сформулированным задачам опубликованы тезисы и статьи.

Публикации. По теме диссертации опубликовано 14 научных работ, из них 7 – в периодических изданиях, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования РФ.

Работа выполнена в Отделе биологически активных веществ ИОЭБ СО РАН в соответствии с проектом № 146 «Разработка лекарственных и профилактических препаратов для медицины. Фундаментальные основы и реализация», утвержденным Президиумом СО РАН.

Структура и объем диссертации. Диссертация состоит из введения, описания материалов и методов исследования, 4 глав с изложением

результатов собственных исследований, обсуждения результатов, заключения, выводов, и списка использованной литературы, включающего 239 источников: 128 отечественных и 111 зарубежных авторов. Диссертация изложена на 134 страницах компьютерного текста и иллюстрирована 13 таблицами и 18 рисунками с диаграммами.

ГЛАВА 1 АДАПТАЦИЯ К СТРЕССУ И СРЕДСТВА, ОБЛАДАЮЩИЕ АДАПТОГЕННОЙ АКТИВНОСТЬЮ

1.1 Сведения об адаптации и стрессе

Психологические проблемы являются частью повседневной жизни любого человека. Фактически, стресс, по-видимому, все больше присутствует в нашем современном и требовательном индустриальном обществе (Lederbogen et al., 2011). Подразделяя стресс, можно выделить несколько различных типов стрессоров: стресс может быть острым (сталкиваться с хищником, физическая травма) или иметь хронический характер (постоянные материальные трудности, семейные конфликты). Это может произойти только один раз, или повторяться, можно жить в ожидании неприятных событий. И наоборот, стресс может быть непредсказуемым и неконтролируемым, легким или тяжелым. (Joëls et al., 2012; Koolhaas et al., 2011). Кроме того воздействие стресса, которое воспринимает человек, сильно варьируют, так же как и стойкость его последствий.

Впервые физиологию стресса представил, как общий адаптационный синдром знаменитый канадский физиолог Ганс Селье в 1936 году (Селье, 1960). Под термином стресс он понимал неспецифическую реакцию организма на любое предъявляемое к нему требование. «Другими словами, кроме специфического эффекта, все воздействующие на нас агенты вызывают также и неспецифическую потребность осуществить приспособительные функции и тем самым восстановить нормальное состояние. Эти функции независимы от специфического воздействия» (Селье, 1960). Факторы, вызывающие стресс – стрессоры, различны, но они пускают в ход, одинаковую, в сущности, биологическую реакцию стресса.

Идея адаптации живых организмов к изменяющимся условиям внешней среды рассматривается с глубокой древности. Ещё Гиппократом было сказано, что здоровье зависит от равновесия между разрушающими и созидающими силами. Основой жизнедеятельности биологических систем

является поддержание стабильности внутренних систем – гомеостаза. Этот сложный механизм в процессе эволюции постоянно совершенствуется в ответ на изменяющиеся условия внешней и внутренней среды. В условиях длительного воздействия неблагоприятных факторов происходит активация регуляторных механизмов, направленная на поддержание постоянства внутренней среды – энантиостаз.

Сигналы, вызывающие стресс-реакцию, имея различное начало – это изменения внутренней и внешней среды, слуховые и зрительные раздражители все они координируются в центральных отделах нервной системы. Мозг, обрабатывая полученную информацию, определяет степень угрозы и меры необходимые для предотвращения негативных воздействий. Координируя внутренние и внешние сигналы, мозг проводит поведенческие и физиологические поправки, для сохранения постоянства внутренней среды и создает новые условия для адаптации в изменившейся обстановке (McEwen, 2006; McEwen, Gianaros, 2010).

В этих процессах участвуют сложные биологические системы, такие как вегетативная нервная система, иммунная и нейроэндокринная системы, желудочно-кишечный тракт и мочевыделительная система. Взаимодействие этих систем происходит за счет биомедиаторов. Активность медиаторных систем зависит от их востребованности и необходимости в определенный момент, которая и позволяет организму справляться с предъявляемыми нагрузками (McEwen, 2010; McEwen et al., 2015). Активный процесс, при котором организм постоянно подвергается динамическим изменениям и при этом сохраняет постоянство внутренней среды, называют аллостазом. Данное состояние более широко раскрывает механизмы адаптации к стрессу (Куприянов, Жданов 2014). После стрессовых реакций организм возвращается к исходному состоянию, в этом случае восстановление равновесия происходит уже на другом уровне, которое позволяет достичь нового стабильного состояния. Этот уровень равновесия называют «аллостатическим состоянием» (Koolhaas et al., 2011). В данном состоянии

активно работают регуляторные системы, происходит интенсивная выработка кортизола и адреналина, приводящая к напряженной и неустойчивой работе организма, в том числе на поведенческом и психическом уровне. Эти механизмы предопределяют появление новых механизмов нейрогуморальной регуляции и поведения, которые наиболее подходят в изменившейся ситуации. В достижении гомеостаза в новых условиях вводится понятие «аллостатическая нагрузка», которая показывает, как организм приспосабливается к неблагоприятным социальным и физическим факторам (Schulkin, 2004). Если аллостатическая нагрузка оптимальная, то в организме происходят позитивные изменения, которые повышают резистентность к неблагоприятным факторам. Такой положительный стресс можно назвать – эустрессом. Этим можно объяснить положительные эффекты физических нагрузок, аутотренинга, закаливания, постоянные занятия спортом. Если аллостатическая нагрузка высокая, возникают предпосылки для нарушения равновесия, в результате чего вновь сформированные структурные элементы регуляции не могут эффективно обеспечить нормальную работу организма в новых условиях и создают возможность развития патологических состояний. Такой чрезмерный стресс называют – дистрессом (Селье, 1982). Этим можно объяснить стойкие посттравматические стрессовые расстройства, возникающие постепенно, которые вначале протекают незаметно, а потом остаются весьма устойчивыми и продолжительными по времени.

Исходя из этого, в концепции стресса можно рассмотреть амбивалентный характер стрессовой реакции. Это было связано с необходимостью различать неадекватные и адаптивные последствия стрессовой реакции (Селье, 1982). Разграничивая понятия стресс – на дистресс и эустресс, очень сложно отделить эти два вида стресса друг от друга (McEwen, Wingfield, 2003; Korte et al., 2005; Dallman et al., 2007). Определяя более точную формулировку в понятии стресса, многие ученые убирают эмоциональную сторону вопроса и основываются на его

физиологической трактовке, беря за основу процессы адаптации. Исходя из этого, под дистрессом можно понимать состояние, при котором происходит ухудшение адаптационных возможностей организма, а эустресс – это когда адаптационные возможности нарастают (Куприянов, Кузьмина, 2009). Такая формулировка согласуется с индивидуально фенотипической адаптацией к окружающей среде высказанной Ф.З. Меерсоном (1993). В ней адаптация происходит за счет структурных изменений в организме, которая создает новую функциональную систему, которая более успешно противостоит изменениям среды. Основным звеном в этом механизме является генетическая связь между клетками и функциональными проявлениями, происходящими в организме. Структурные изменения, возникающие в высших отделах нервной системы, дают долговременный эффект, который способствует устойчивости головного мозга к сильным раздражителям (Глебов и др., 2013).

Выживание является фундаментальным приоритетом всех организмов в постоянно меняющихся условиях окружающей среды. Этот процесс часто зависит от способности адаптироваться к различным изменениям гомеостаза. В ходе эволюции сформированы оптимальные механизмы для борьбы с острыми, так и с длительными угрозами. Активация гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальной системы (ГГАКС) представляет собой одну из первых реакций на изменения гомеостаза. Изменение уровня глюкокортикоидов мобилизирует систему ГГАКС для своевременного ответа на стрессор. Надлежащий контроль реакции на стресс имеет решающее значение, так как неправильная или длительная активация оси ГГАКС является энергетически невыгодной и впоследствии приводит к различным патологическим состояниям (Herman et al., 2016).

Глюкокортикоиды способствуют перераспределению энергии и имеют решающее значение для выживания и адаптации. Они влияют на синаптическую, нейроэндокринную и поведенческую регуляцию (Myers et al., 2014). В структурах головного мозга и гипофизе глюкокортикоиды

передают сигналы через два подтипа рецепторов: рецептор минералокортикоидов и рецептор глюкокортикоидов. Рецепторы минералокортикоидов регулируют основные циркадные и суточные ритмы, и играют важную роль в регуляции активности ГГАКС в зависимости от времени суток. Более высокие уровни глюкокортикоидов (включая те, которые наблюдаются после стресса) активируют рецепторы глюкокортикоидов и мобилизуют энергетические запасы (печени, мышц) и нервную систему. Контроль высвобождения глюкокортикоидов происходит за счет обратной связи на разных уровнях ГГАКС, что служит ограничением для продолжительного действия глюкокортикоидов. Это имеет первостепенное значение, так как избыточное воздействие глюкокортикоидов может привести к нежелательным катаболическим процессам в организме. Учитывая, что уровень глюкокортикоидов при стрессе считывается в основном рецепторами глюкокортикоидов, то они, как правило, играют основную роль и в регуляции обратной связи (Myers et al., 2012).

Ответ ГГАКС на стресс обусловлен, главным образом, высвобождением кортикотропин-рилизинг-гормона (CRH) из нейронов гипоталамического паравентрикулярного ядра. Пути, активирующие высвобождение CRH, зависят от стрессора: реактивные ответы на гомеостатическое нарушение включают прямой норадренергический путь из нейронов гипоталамического паравентрикулярного ядра, тогда как для упреждающих ответов используются олигосинаптические пути, возникающие в лимбических структурах (Herman et al., 2016). Стрессоры вызывают высвобождение CRH в портальные сосуды гипофиза, где нейропептид попадает в переднюю долю гипофиза, где стимулирует синтез проопиомеланокортина, из которого образуется адренокортикотропный гормон (АКТГ) (Jenks, 2009). В коре надпочечников АКТГ воздействует на рецепторы меланокортина (MC2R) в пучковой зоне. Связывание АКТГ с MC2R приводит к увеличению внутриклеточного уровня циклического

аденозинмонофосфата (цАМФ), что вызывает быстрое увеличение биосинтеза холестерина. Холестерин является предшественником для большинства стероидов, включая минералокортикоиды и глюкокортикоиды (ГК). После синтеза ГК попадают в систему кровообращения в ультрарадианном ритме. Биологическая ритмичность является важным компонентом ГГАКС, поскольку нарушение ритма (например, постоянная доступность ГК) нарушает передачу сигналов глюкокортикоидных рецепторов обратной связи.

Наряду с ГГАКС вегетативная нервная система обеспечивает немедленную реакцию на воздействие стрессора через свои симпатические и парасимпатические нервные пути. Эта симпатическая активация представляет собой классический ответ «бой или бегство», который впервые описал в начале 20 века Уолтер Кэнннон (Cannon, 1929). В данном случае происходит восприятие предстоящей угрозы с мобилизацией физиологических систем, что позволяет организму бороться с угрозой или бежать от неё. Парасимпатические действия обычно противоположны действию симпатической системы (Herman, 2003; Морозов, Хадарцев, 2010).

Мозг запускает стрессовые реакции, соразмерные природе раздражителя. Физические стрессоры – такие как кровопотеря, инфекционные заболевания, боль – требуют немедленной «системной» реакции, которая запускаются рефлекторными механизмами. Мозг также реагирует и на «психогенные» стрессоры, которые формируют ответ на основе жизненного опыта и фенотипических особенностей индивида (Herman, 2003). Эти ответы обрабатываются в переднем мозге и не имеют прямых связей со стволом мозга, который может генерировать быстрые реакции оси гипоталямус-гипофиз-надпочечники и вегетативной нервной системы посредством прямых проекций на гипофизотропные гормоны в паравентрикулярном ядре гипоталямуса или преганглионарные вегетативные нейроны (восходящая регуляция) как при острых стресс-регуляторных состояниях (Ulrich-Lai, Herman, 2009).

При стрессе ГК оказывают широкое влияние на ЦНС, воздействуя на функции и взаимодействие нейронов. Они принимают участие в клеточной передачи сигналов и в модуляции синаптических структур, в регуляции транскрипции генов (Vyas et al., 2017). Причем их модулирующее действие на различные функции мозга проявляются от раннего развития до глубокой старости (Kapoor et al., 2006). Доказано положительное влияние стрессовых гормонов на нейротрофический фактор (BDNF), который имеет высокую экспрессию в структурах головного мозга в частности в гиппокампе и коре головного мозга. Нейротрофические факторы хорошо известны благодаря их положительному влиянию на пролиферацию и дифференцировку как эмбриональных, так и взрослых нейрональных стволовых клеток (NSCs/NPCs) (Schmidt, Duman, 2007; Numakava et al., 2017). Так в эксперименте in vivo показано антиаппотозное действие глюкокортикоидов на экспрессию BDNF в гиппокампе неонатальных крыс (Баннова и др., 2015). В основе механизмов адаптации связанной с действием ГК лежит также влияние на обмен веществ в организме, в результате чего происходит мобилизация энергетических ресурсов.

Хотя реакции на стресс развиваются как адаптивные процессы, Ганс Селье заметил, что тяжелые, длительные реакции на стресс могут привести к тяжелым патологическим состояниям приводящие к болезни и даже смертельным исходам. Поэтому он впервые разработал концепцию, описывающую, как различные типы стрессоров окружающей среды влияют на физиологические функции и способствуют развитию болезни, которые получили название «Общего адаптационного синдрома» (Селье, 1960). В ней были показаны характерные изменения внутренних органов, возникающие независимо от вида стрессорного воздействия и получившие название «триады Селье»: гипертрофия коры надпочечников; инволюция периферических и центральных органов иммунной системы – селезенки, лимфатических узлов, тимуса; язвенные процессы в желудке и двенадцатиперстной кишке. Исходя из концепции общего адаптационного

синдрома, в ней были выделены 3 стадии развития стрессорной реакции – тревоги, резистентности и истощения.

В стадии тревоги наблюдается перестройка жизненно важных систем обеспечения организма для работы в экстремальных условиях. После восприятия острого стрессового события происходят изменения в нервной, сердечно-сосудистой, эндокринной и иммунной системах. Эти изменения представляют собой адаптивные процессы, направленные для работы в краткосрочной перспективе (Селье, 1960). Происходит запуск гормонов стресса, чтобы сделать запасы энергии доступными для немедленного использования организмом и вследствие этого возникает новая схема перераспределения энергии (Schneiderman et al., 2005).Энергия направляется в ткани, которые становятся более активными во время стресса, в первую очередь на скелетные мышцы и мозг. С точки зрения эволюции, сосудистые реакции, направляют кровь в скелетные мышцы, в соответствии с реакцией «сражайся или беги». Клетки иммунной системы также активируются и мигрируют на «боевые позиции». Менее важные системы могут быть приостановлены, происходит подавление аппетита, сексуальных реакций, производство гормонов роста и др. (Joëls, 2012).

Стадия резистентности или сопротивления наступает после относительно короткой стадии тревоги. Это основная стадия, отвечающая за выравнивание нарушенного равновесия, при этом в результате сопротивления происходит повышение устойчивости организма к действию любых стрессовых факторов, что наиболее соответствует концепции общего адаптационного синдрома. Если в этой стадии воздействие стрессора прекращаются или незначительны, то произошедшие изменения в организме восстанавливаются до нормальных значений.

Стадия истощения. Если мы имеем чрезмерно длительное и интенсивное действие стрессового фактора или когда ответная реакция организма может оказаться неадекватной тем условиям, которые её вызывают, происходит переход стадии сопротивления в стадию истощения с

последующим развитием патологических изменений в организме вплоть до летального исхода.

В целом стресс может вызвать как полезные, так и вредные последствия. Благодаря воздействию стресса включаются механизмы, направленные на сохранение гомеостаза, но если стресс тяжелый и длительный возникают расстройства, которые можно отнести к болезням цивилизации. Из них онкологические, сердечно-сосудистые заболевания, сахарный диабет являются основными среди причин инвалидности, временной нетрудоспособности и смертности в современном обществе (Агаджанян, 2006).

Воздействие стресса оказывает глубокое влияние на структуры головного мозга, его лимбическая система не только координирует стрессовую реакцию, но также подвергается воздействию измененных уровней экспрессии различных гормонов, нейротрансмиттеров и трофических факторов. Длительное воздействие ГК вызывает потерю пирамидных нейронов в гиппокампе сопровождающимися когнитивными расстройствами у крыс (Смирнов и др., 2013). Хронический стресс уменьшает количество нейронов префронтальной коры, снижает скорость пролиферации глиальных клеток (Banasr et al., 2007; Czéh et al., 2007), способствует усилению выделения провоспалительных цитокинов из микроглии (Walker et al., 2013). Длительный стресс может оказывать кумулятивное влияние на возникновение и прогрессирование болезни Альцгеймера, так повышенный уровень ГК усиливает токсичность амилоида Aβ (Jeong et al., 2006; Catania et al., 2009). Длительное воздействие стрессовых нагрузок приводит к высокому уровню катехоламинов в крови с повышением сосудистого тонуса и общего артериального давления. В результате деполяризующего эффекта происходит накопление ионов кальция в кардиомиоцитах и в гладкой мышечной ткани сосудов (Wagner et al., 2013). Высокие уровни ГК приводят к интенсивному липолизу, с активацией свободнорадикального окисления (СРО) биомакромолекул и нарушением

проницаемости клеточных мембран. Напряжение этих процессов при хроническом стрессе приводит к повреждению клеток с образованием «липидной триады», который запускает каскадный механизм повреждения с нарушением работы кальциевой АТФ-азы приводящей к накоплению в цитоплазме ионов кальция с повышением реактивности сердечно-сосудистой системы к действию катехоламинов и к другим биологически активным веществам с развитием «кальциевой триады». В своем развитии «кальциевая триада может привести к инфаркту миокарда (Akar et al., 2005; Bers, 2006; Yusuf et al., 2012).

Развитие адаптационного процесса происходит в виде срочной и долговременной адаптации (Меерсон, 1993; Меерсон, Пшенникова, 1988; Пшенникова, 2001). Срочную адаптацию можно назвать аварийной это начальный этап адаптации, который происходит на основе готовых заложенных природой работой многих связанных с собой функциональных систем. К основным функциональным системам мы относим работу симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой систем. Эти системы получили название стресс-реализующих систем. Срочная адаптация протекает по-разному, в зависимости от индивидуальных особенностей организма. Работа гормональных и метаболических систем в этом случае еще не скоординированы и протекают на максимальном пределе своих функциональных возможностей.

Адаптация, которая возникает постепенно на основе многократной реализации срочной адаптации, когда большое количество накопленных изменений в организме, переходят в новое качественное решение, называют долговременной адаптацией. В процессе долговременной адаптации происходят структурные изменения в организме, которые повышают мощность и обеспечивают устойчивую экономную работу основных функциональных систем. Долговременная адаптация формируется за счет активации генетического аппарата клеток. В основе активации транскрипции генов лежит энергетический баланс клеток и высокая концентрация

фосфорных макроэргических соединений приводящие к увеличению синтеза РНК и белка. Морфофункциональные изменения, произошедшие в процессе адаптации называют структурным следом адаптации (Судаков, 1998; Меерсон, Пшенникова, 1988). При формировании структурного следа адаптации происходит не только приспособление организма к изменившимся условиям, но и повышение резистентности к повреждающим воздействиям. Особое значение в долгосрочной адаптации придаётся стресс-лимитирующим системам, которые регулируют активность стресс-реализующих систем для предотвращения развития различных патологических состояний (Малышев, Манухина, 1998; Пшенникова, 2001; Воробьева, 2009). Стресс-лимитирующие системы подразделяют на центральные и периферические системы. К центральным относят ГАМК-ергическую, серотонинергическую и опиоидергическую системы. К периферическим системам относят антиоксидантную, простагландиновую, систему защитных стресс-белков теплового шока и др. (Меньщикова и др., 2008).

Основным моментом в адаптации является активация центральных механизмов регуляции, которые при стрессе тормозят выход кортикотропин-рилизинг-гормона, вследствие чего снижается выход катехоламинов и глюкокортикоидов. Такие нейротрансмиттеры – серотонин, ГАМК, дофамин, глицин, опиоидные и другие пептиды модулируют активность стресс-реализующих систем тем самым ограничивают стресс-реакции и адаптируют организм к повторяющимся стрессорным факторам. На периферии также действуют регуляторные механизмы, где антиоксидантная система, система простагландинов и другие системы модулируют чрезмерные эффекты катехоламинов и других факторов и лежат в основе десенситизации и предупреждении стрессовых воздействий (Меерсон, Пшенникова, 1988).

Основную роль в регуляции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы принимает ГАМК-ергическая система. Установлено, что ГАМК является численно доминирующим

нейротрансмиттером в гипоталамусе, что подчеркивает важность тормозных путей нейронов паравентрикулярного ядра гипоталамуса (Decavel, Pol, 1990; Herman et al., 2004; Cullinan et al., 2008). Было высказано предположение, что плотность ГАМК-ергических синапсов в паравентрикулярном ядре гипоталамуса превышает 20×10^6 синаптических контактов на мм³ (Miklos, Kovacs, 2002). Кроме того, микроинъекция антагонистов ГАМК, таких как бикукуллин, активирует гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему (Cullinan et al., 2008; Marques, Franci, 2008), а микроинфузии агонистов ГАМК, таких как производный от стресса нейростероид тетрагидродеоксикортикостерон снижает циркулирующий уровень гормонов стресса (Sarkar et al., 2011).

Наряду с ГАМК-ергической системой важную роль в регуляции стресс-реакции играет опиоидергическая система. Опиоидергическая система имеет прочное сопряжение со стресс-реализующей системой, которое генетически детерминировано и определяется тем, что АКТГ и β-эндорфин синтезируются в клетках гипофиза в виде единой полипептидной цепи и при острых стрессовых воздействиях β-эндорфин и АКТГ выбрасываются из гипофиза в кровь в эквимолярных количествах (Guillemi et al., 1977; Dirksen et al., 1981). К эндогенным опиоидным нейропептидам относят – энкефалины, эндорфины, динорфины, которые являются агонистами опиоидных рецепторов. Данные нейропептиды ограничивают эффекты активации адренергической системы и потенцируют действие серотонинергической (Lewis et al., 1982; Van Loon et al., 1985). Серотонинергическая система также сопряжена со стресс-реакцией. Под её воздействием происходит активация серотонина образующегося в нейронах ядер шва ствола мозга, поступающего по аксонам этих нейронов в лимбическую систему и гипоталамус, в результате чего серотонин ограничивает возбуждение адренергических центров (Порядин, 2009).

Периферические стресс-лимитирующие системы направлены в основном на повышение устойчивости клеточных структур и органов к

повреждающему действию стрессорных факторов. Так в основе действия простагландинов, является их прямое стабилизирующее воздействие на клеточные мембраны, являясь вазодилататорами, ограничивают липолитическое действие катехоламинов. Антиоксидантная система является одной из основных природных систем непосредственно защищающая мембранные структуры клеток от действия свободных радикалов и ограничивает свободнорадикальное окисление биомакромолекул при стрессе (Sakac, 2000; Vertuani, 2004; Valko et al., 2006;). Её главными антиоксидантными ферментами расщепляющие активные формы кислорода являются супероксиддисмутаза, каталаза и глутатионпероксидаза.

Одним из механизмов, стабилизирующих клеточные структуры при стрессе, является активация продукции высокоактивных защитных стресс-белков теплового шока HSP. Синтез белков теплового шока увеличивается в ответ на повреждение клеток во время стресса. С помощью них происходит ремонт белков получивших неправильную конформацию в результате повреждения, повышается устойчивость клеток к стрессу за счет стабилизации сигнальных рецепторов способствующих устранению повреждения в клетках.

Способность предотвращать агрегацию белков и полипептидов является наиболее важной функцией многих белков теплового шока, особенно в условиях стресса, которые приводят к разворачиванию клеточных белков (Kappé et al., 2003; Franck et al., 2004). Эта шапероноподобная функция была впервые показана для белка хрусталика глаза, α-кристаллина. Данный белок принадлежит к семейству малых белков теплового шока и является основным структурным белком хрусталика глаза. Шапероноподобная активность α-кристаллина поддерживает прозрачность хрусталика, а нарушение этого механизма приводит к помутнению хрусталика с развитием катаракты (Horwitz, 1992).

Адаптационные возможности организма могут быть нарушены вследствие длительных по силе стрессовых воздействий, приводящих к

дисбалансу между стресс-реализующими и стресс-лимитирующими системами вследствие чего, возникают различные патологические состояния. Для коррекции дезадаптации и повышения сопротивляемости организма, в последнее время широко применяются растительные средства, обладающие адаптогенными свойствами.

1.2 Растительные адаптогены и экдистероиды

Впервые термин адаптоген в середине прошлого столетия ввел советский ученый, профессор Н.В.Лазарев (1947). Согласно его теории лекарственные средства приводящие организм к состоянию неспецифической повышенной сопротивляемости (СНПС) при различных заболеваниях и вредных воздействиях окружающей среды, называют адаптогенами (Лазарев, 1947). Данное состояние можно достичь за счет постепенной адаптации организма к неблагоприятным факторам или приема лекарственных средств – адаптагенов. Исходя из этого, адаптогены должны соответствовать нескольким критериям: во-первых, адаптогены должны быть неспецифичными и должны противостоять широкому спектру неблагоприятных воздействий физической, биологической или химической природы. Во-вторых, должны поддерживать постоянство внутренней среды, независимо от направленности воздействий вызванных стрессом. В-третьих, должны быть безвредными для организма и обладать высокой широтой терапевтического действия. В-четвертых, действие должно быть более выражено, чем сильнее неблагоприятные воздействия (Брехман, 1968).

Всем этим требованиям отвечают адаптогены растительного происхождения. Растительные адаптогены (РА) являются продуктом живой природы и поэтому вещества, получаемые из них более близки эндогенным соединениям организма. Синтез в растениях протекает при самых минимальных энергетических затратах, чем те которые синтезируются в химических лабораториях. Поэтому лекарственные растительные средства действуют более мягко, без побочных явлений, адекватно влияя на

функциональное состояние клеток не вызывая привыкания и развития лекарственной зависимости (Шабанов, 2003; Аксиненко, 2011).

Имея тысячелетнюю историю применения, лекарственные растительные средства наиболее широко стали использоваться в научной практике только в середине прошлого столетия. До этого основное их применение было в народной и традиционной (китайской, тибетской, индийской) медицине. В середине 1940-х годов в СССР изучение адаптогенов превратилось в область биомедицинских исследований, это было связано с крупным целевым проектом, направленным на исследование биологически активных веществ из растительного мира. Целью исследования была разработка лекарств и методов, способных стимулировать внутренние адаптационные механизмы организма, чтобы помочь ему выжить в ситуациях интенсивного или длительного стресса, при этом предпочтительно поддерживая способность к физической и умственной работе (Panossian, Wikman, 2010). Наиболее интересные исследования были направлены на изучение адаптогенов, способных активировать защитные механизмы клеток, с помощью регуляции молекулярных шаперонов (белков теплового шока), таких как Hsp70 и других ключевых медиаторов стресса (Panossian et al., 2007; 2009).

В России в настоящее время в практической медицине применяется большой ассортимент лекарственных растительных адаптогенов. Первым из них был внедрен в широкую практику препарат из корневищ женьшеня. В дальнейшем препараты из сырья аралии маньчжурской, элеутерококка колючего, лимонника китайского, родиолы розовой, заманихи высокой (Брехман, 1968; Давыдов и др., 1996). В настоящее время проводятся исследования новых лекарственных средств. Были выявлены адаптогенные свойства у плодов винограда европейского (Sreemantula, 2005), шелковицы белой (Nade, 2009), граната обыкновенного (Seely, 2007), подорожника большого, почек березы, полыни, чаги (Поветьева, 2002), шлемника байкальского (Дамдинова, 2001), бадана толстолистного (Зуева, Амосова,

1998), экстракта каллизии душистой (Раднаева, 2009), солодки уральской, пиона белоцветкового, астрагала перепончатого (Яременко, 2005), девясила высокого (Зеленская и др., 2004) и некоторых других растений.

Исходя из концепции «общего адаптационного синдрома» растительные адаптогены являются естественными биорегуляторами, которые под воздействием стрессорных факторов способствуют более эффективной работе срочной и долговременной адаптации. В результате чего они сводят к минимуму реакцию организма на стресс, уменьшая негативное влияние гиперергических повреждений в стадии тревоги, усиливают восстановительные метаболические процессы в стадии резистентности и устраняют или задерживают развитие стадии истощения (Panossian et al., 1999; Liao et al., 2018).

Растительные адаптогены, являясь биологически активными соединениям, по своей химической структуре представляют собой либо сложные фенольные соединения или тетрациклические тритерпеноиды. Фенольные соединения включают в основном производные фенилэтана, такие как салидрозид который входит в состав родиолы розовой (*Rhodiola rosea* L.) (Саратиков, Краснов, 2004); и лигнаны, такие как элеутерозид Е входит в состав элеутерококка колючего (*Eleutherococcus senticosus* Maxim.) и *schisandrin B* входит в состав лимонника китайского (*Shisandra chnensis* Baill.). Они структурно аналогичны катехоламинам – медиаторам симпатоадреналовой системы. Тетрациклические тритерпеноиды, такие как гинсенозид один из активных компонентов корня женьшеня (*Panax ginseng* C.A. Meyer) (Wang, Lee, 2000); диглюкозид кукурбитацина R выделенный из корней переступня белого (*Bryonia alba* L.) структурно напоминают кортикостероиды, в связи с чем, обусловлена их биологическая активность (Panossian et al., 2010).

Механизм действия адаптогенов при стрессе происходит за счет различных регуляторных систем действующих от клеточного уровня до всего организма. На клеточном и молекулярном уровне происходит активация

нейропептидов, антиоксидантных ферментов и ключевых медиаторов реакций на стресс (Hsp70 и Hsp16 белков теплового шока, протеинкиназ JNK, фактора транскрипции Forkhead Box O FOXO, кортизола и оксид азота NO).

Одним из повреждающих факторов стресс-реакции является гиперактивация свободно-радикальных процессов. Растительные адаптогены препятствуют вызываемому стрессом накоплению в организме продуктов перекисного окисления липидов – малонового диальдегида, а также снижению активности супероксиддисмутазы с ослаблением фосфорилирования JNK-киназ и окиси азота. Также в модельных экспериментах в культуре астроцитов с водной вытяжкой из женьшеня по данным электронно-резонансной спектрометрии, гинзенозиды (Rb1, Rg1, Re) выступали в роли «ловушек» свободных радикалов (Jiao et al., 2016).

Выявлен нейропротективный эффект PA связанный с ограничением активности возбуждающих аминокислот со снижением агрессивности ионов кальция. Так снижение активности глутамата нормализовало работу постсинаптических рецепторов типа N-метил-D-аспартат (NMDA), что способствовало защите нейронов от эксайтотоксичности и запуска глутамат-кальциевого каскада (Panossian, 2017).

Также выявлено участие PA в нейрогенезе способствующих не только защите нервных клеток от повреждения, но и их стимуляции для восстановления. Как показано на культуре нейронов крыс, экстракты из женьшеня, гинзенозиды (Rb1 и Rg1) увеличивают число нейронов с хорошо развитыми отростками и потенцируют эффекты фактора роста нервов (NGF), тем самым обнаруживая отчётливые нейротрофические свойства (Ong et al., 2015).

Молекулярный механизм стресс-защитного эффекта адаптогенов связан с контролем ключевых медиаторов реакции на стресс с последующим влиянием на гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковую систему. Под действием адаптагенов происходит активация экспрессии белков теплового шока Hsp70 и фактора транскрипции FOXO, которая приводит к

ингибированию вызванную стрессом экспрессию генов NO и JNK-киназ, вследствие чего происходит нормализация синтеза АТФ в клетке и восстановление обратной связи глюкокортикоидных рецепторов ГГАКС и нормализации уровня кортизола. Таким образом, растительные адаптогены действуют как «легкие вакцины» активируя механизмы самозащиты, чтобы подготовить клетку и организм для смягчения вредных воздействий, вызванных стрессом (Panossian, Wikman, 2010; Panossian, 2017).

При работе ГГАКС можно указать на вероятность их прямого взаимодействия с кортикостероидами в центральной нервной системе и эффекторных органах. Например, рецепторное взаимодействие гинзенозидов определяется их структурным сходством с глюкокортикоидами, вследствие чего они имеют возможность влиять на одни и те же рецепторы, понижая чувствительность глюкокортокоидов и подавляя их фармакологические эффекты (Арушанян, Бейер, 2009).

Учитывая механизм действия, можно говорить о многообразии фармакологических свойств РА. Они обладают анксиолитическим, ноотропным, нейропртекторным и нейростимулирующим действием (Бочаров и др., 2008; Арушанян, 2008); оказывают противобластное действие (Яременко, Пашинский, 2003, 2007), повышают устойчивость организма к гипоксии (Zhang, 2004), повышают физическую и умственную работоспособность на фоне стресса и усталости (Panossian, Wikman, 2009).

При приеме РА не формируется лекарственная зависимость, привыкание, нарушение психических функций как при приеме тонизирующих средств и симпатомиметиков, таких как эфедрин, фенамин и др. При действии синтетических стимуляторов на фоне психомоторного возбуждения и высокой работоспособности происходит истощение энергетических запасов мозга. В результате чего после мощной активации обменных процессов, происходит отставание воспроизводства необходимых для работы клетки метаболитов от их расходования, что приводит к развитию фазы угнетения с последующим развитием депрессивных состояний. При

приеме РА стимулирующий эффект достигается за счет эффективного ресинтеза и экономного расходования энергии. В результате этого происходит постепенное, более плавное восстановление умственной и физической деятельности и такая устойчивая во времени нормализация не выходит за определённые физиологические границы, благодаря чему и не сменяется последующей фазой депрессивного состояния. По опытным данным *in vitro*, это происходит, вероятно, за счёт стабилизации функционального состояния митохондрий (Арушанян, 2003).

Особый интерес в настоящее время представляют исследования новых биологически активных соединений, получаемых из растительного сырья, обладающих адаптогенными свойствами. Одним из таких представителей являются экдистероиды. Они играют важную роль, в метаморфозе насекомых стимулируя линьку и инициацию превращений от личинки до куколки и затем до взрослого насекомого. Один из главных представителей экдистероидов, 20-hydroxyecdysone, является истинным гормоном линьки для насекомых и ракообразных.

Экдистероиды влияют на обмен веществ в организме, вследствие чего они играют важную роль в метаболизме белков, углеводов и липидов (Thiem et al., 2017) Так экдистероиды уменьшают гипергликемию, вызванную глюкагоном. Обладают гепатозащитной и нефропротективной активностью, увеличивая секрецию желчи и восстановление нормальной скорости клубочковой фильтрации (Festucci-Buselli et al., 2008; Graf et al., 2014).

Влияют на деятельность центральной нервной системы, улучшая метаболизм нейротрансмиттеров, тем самым повышая синтез ГАМК, а также нейромодулирующим действием на $ГАМК_А$ рецептор (Dinan, Lafont, 2006). Также сообщалось об антиоксидантных, противовоспалительных и антипролиферативных свойствах (Мамадалиева и др., 2013); а также иммуномодулирующем действии у лабораторных животных (Шахмурова и др., 2012). Экдистероиды оказывают благотворное влияние на кожу человека. Помимо улучшения состояния кожи, они действуют как ингибиторы

коллагеназы кожи и ускоряют заживление мелких ран и ожогов. Учитывая эти особенности, бета-экдизон нашел широкое применение в косметологии (Nsimba et al., 2008).

Основной отличительной особенностью экдистероидов является их способность к анаболическому действию, усиливать синтез белков в скелетных мышцах (Gorelick et al., 2008). Анаболический эффект экдистероидов не связан с эффектами андрогенных гормонов, наблюдаемыми для человеческих анаболических стероидов, поскольку они не проявляют значительной аффинности связывания с рецептором тестостерона (Bathori et al., 2008).

По своей структуре молекулы экдистероидов имеют сходство с базовой структурой стероидов, но они более гидрофильны из-за полигидроксилирования, имеют стероидные ядра с атомами углерода от C-27 до C-29 и имеют различную форму из-за конъюгации A/B-цис-кольца (Lafont et al., 2017).

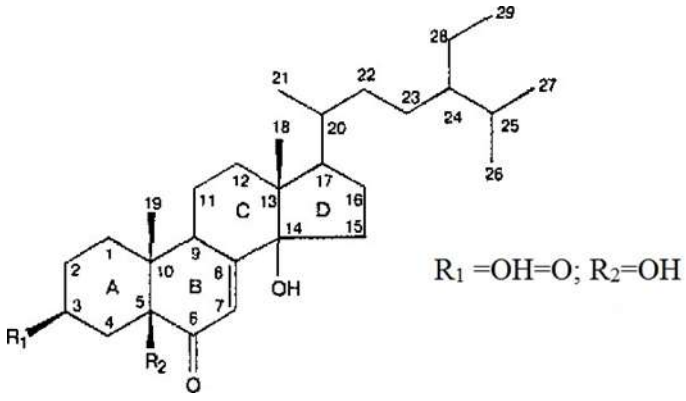

Рисунок 1.2.1 – Общая структура экдистероидов

В последних исследованиях было показано, что 20-гидроксиэкдизон, экдистероид, который чаще всего поступает в организм человека с пищей или в качестве добавок, опосредует анаболическую активность посредством взаимодействия с β-рецептором эстрогена (Parr et al., 2014). Учитывая, что острая токсичность экдистероидов у млекопитающих очень низкая и составляет $LD_{50} > 6$ г/кг, имеется возможность их применения в качестве

орфанных препаратов для лечения патологических состояний, связанных с мышечной атрофией или травмой (Dinan, Lafont, 2006; Hansen et al., 2018). В настоящее время с учетом анаболических свойств экдистероидов они широко применяются в спорте для достижения высоких результатов и в спортивной медицине (Lafont, Dinan, 2003).

Механизм действия экдистероидов в связи с тем, что их рецепторы не найдены у млекопитающих, до конца не изучен (Dinan, Lafont, 2006). В настоящее время их связывают с эффектами, оказываемыми на клеточные мембраны и активацию геномного синтеза белков для повышения жизнедеятельности клеток при стресс-реакциях (Bathori et al., 2008; Андреева и др., 2012). Вследствие своей липофильности экдистероиды встраиваются в фосфолипидный мембранный слой клеток, потенцируя сигнальные пути с активацией вторичных мессенджеров. Так активация G-белковых рецепторов запускает внутриклеточные сигнальные каскады с образованием кальций-фосфолипидного механизма. В данном случае активация G-белковых рецепторов отвечает за реализацию быстрых мембранных не геномных ответов. Для активации геномных ответов необходимо взаимодействие с ядерными экдистероидными рецепторами, эффект которых проявляется через определенный промежуток времени. У насекомых экдистероиды обладают хорошо известными геномными эффектами, в которых участвуют ядерные рецепторы. У млекопитающих молекула экдистерона, предотвращает связывание с рецепторами гормонов. В последнее время было установлено что «сиротские» ядерные рецепторы, такие как PXR – рецептор ретиноида X обладающий широкой специфичностью может связывать несколько стероидов (Schroepfer, 2000; Jones et al., 2000). Учитывая широкую специфичность этих белков, они могут скорее функционировать как «эндокринные сенсоры», а не как «истинные рецепторы». Поэтому природа усиления транскрипции геномного воздействия экдистерона со специфическими ядерными рецепторами у млекопитающих пока ещё изучается (Васильев и др., 2015).

Экдистероиды находятся в большом количестве в растениях, в среднем концентрация в них составляет 1–1,5 % в биомассе. В настоящее время в растениях изучено строение более 150 молекул экдистероидов (Чадин и др., 2003). Причем концентрация этих веществ в растениях с учетом биомассы в миллионы раз выше, чем у насекомых (Тимофеев, 2004). Однако при исследовании биологической активности в биотестах было выявлено, что она проявляется не у всех видов растений и зависит от присутствия в них большого числа неактивных фитоэкистероидов (Тимофеев, 2006). У млекопитающих наиболее активны следующие экдистероидные соединения – ponasterone A, muristerone A и ecdysterone. Их структурные формулы различаются расположением и количеством гидроксильных групп (Щулькин и др., 2012).

Находясь практически во всех растениях, фитоэкдистероиды различаются по уровню концентрации в них, и эта разница может достигать от 20–300 нг/кг до 20–30 г/кг (Тимофеев, 2003). Только у 4–5 % растений концентрация может достигать сотые и тысячные доли от сухого веса. Лишь у небольшой части растений концентрация достигает десятые доли и в среднем составляет от 0,5 до 1,5 % (5–15 г/кг) (Dinan et al., 2001). К таким растениям можно отнести левзею сафлоровидную (*Rhaponticum carthamoides* Willd. Iljin) и серпуху венценосную (*Serratula coronata* L.) концентрация экдистерона в них в среднем составляет 0,12–0,57 % и 0,31–1,15 % соответственно. На мировом рынке из всего многообразия экдистероидсодержащих препаратов 36 % занимают препараты из R. carthamoides (Тимофеев, 2001; Lafont, Dinan, 2003). В России из этих препаратов официально зарегистрированы – экстракт жидкий левзеи сафлоровидной на 70 % спирте и в таблетированной форме «Экдистен». В практической медицине эти препараты применяются при нарушениях работы нервной, репродуктивной и сердечно-сосудистой системах. Адаптогенные свойства этих препаратов развиваются постепенно и выражаются в

повышении стрессоустойчивости организма, активации умственной и физической деятельности (Тимофеев, 2007; Ивановский, 2009).

Использование корней левзеи сафлорофидной в качестве сырья приводит к её истощению в природной популяции и необходимости восстановления плантаций при её возделывании в культуре. Обработка корневищ также представляет более трудоемкий и затратный механизм по сравнению с надземной частью растений. Поэтому большой интерес представляют растения из рода *Serratula* L., серпуха (сем. Asteraceae) (Соколов, 1993; Воробьева и др., 2005). Так при фармакологических исследованиях серпухи венценосной (*Serratula coronata* L.) в её надземной части, находящейся в период цветения, содержание 20-гидроксиэкдизона составило 2 % в расчете на сухую массу (Чадин, 2003). Содержание 20-гидроксиэкдизона в корневищах левзеи сафлоровидной составляет всего 0,2 %. В настоящее время разработана экдистероидсодержащая субстанция Серпистен из надземной части растений *Serratula coronata* L., сухой экстракт, которого входит в основу капсулированных форм биологически активных добавок. Кардистен – противоишемический, Диастен – противодиабетический и Адастен – иммуностимулирующего действия (Володина и др., 2010).

Проводится изучение других перспективных растительных средств из рода *Serratula* L. обладающих адаптогенными свойствами. Одним из таких растений является серпуха васильковая *Serratula centauroides* (L.) произрастающая на территории Республики Бурятия (Николаева и др., 2014). Проведено фармакогностическое исследование серпухи васильковой *S. centauroidis.* Определен химический состав, выявлены анатомо-диагностические признаки, изучены запасы и урожайность в районах Республики Бурятия. Установлено большое содержание экдистероидов и флавоноидов в надземной части растения (Цыбиктарова, 2014, 2016). Все эти данные позволяют включить серпуху васильковую в состав многокомпонентных растительных средств.

Многокомпонентные прописи растительных средств имеют широкое применение в традиционной и научной медицине. В них происходит оптимальное сочетание биологически активных веществ позволяющее в более низкой концентрации добиться усиления фармакотерапевтической активности при одновременном снижении токсичности препарата. Так в тибетской медицине наиболее часто применяются лекарственные средства с тремя и более ингредиентами. Это связано с тем, что болезнь рассматривается как заболевание всего организма, и действие лекарства направлено не только на очаг заболевания, но и на повышение защитных функций и неспецифической сопротивляемости организма в целом (Петров и др., 2009; Асеева и др., 2012).

1.3 Данные о растениях, входящих в состав экстракта сухого «Центафит»

У многокомпонентных препаратов достигается наибольший терапевтический эффект за счет концепции скоординированных эффектов благодаря чему одни ингредиенты эффективны при лечении заболеваний, а другие модулируют функцию этих активных компонентов, повышают их эффективность, уменьшают побочные эффекты или управляют их доставкой в органы-мишени (Николаев, 2008, 2012; Wagner et al., 2009). В традиционной восточной медицине на протяжении тысячелетий предпочтение отдаётся комплексным растительным препаратам, одной из причин является то, что они менее токсичны и лучше переносятся (Ho et al., 2013).

«Центафит» – условное название комплексного растительного средства в состав, которого входят: *Serratula centauroides* L., *Echinacea purpurea* L. Moench, *Rosa spp., Inula helenium* L., *Bergenia crassifolia* L. Fritsch.

Серпуха васильковая (*Serratula centauroides* L.), семейство Астровые (*Asteraceae*). В состав травы *S. centauroidis* входят следующие биологически активные вещества: полисахариды, сапонины, флавоноиды, аминокислоты,

свободные углеводы, витамины, фенолкарбоновые кислоты, дубильные вещества, следы алкалоидов, кумарины, экдистероиды, арбутин. В состав флавоноидов входят: гиперозид, рутин, кверцетин, лютеолин, дигидрокверцетин; фенолкарбоновые кислоты – галловая, хлорогенновая, кофейная, цикориевая, неохлорогенновая, феруловая. Среди экдистероидов находятся – экдистерон, интегристерон А, 2-дезокси-20-гидроксиэкдистерон. Наибольшее содержание экдистероидов и флавоноидов находится в листьях в период цветения и составляет от 1,15 до 2,12 % и от 2,18 до 3,85 % соответственно (Цыбиктарова, 2016). В исследованиях *S. centauroides*, произрастающего на территории Монголии (Мункожаргал, Зибарева, 2007), был также обнаружен 20 гидроксиэкдизон (20 Е). По сравнению с наиболее известным видом из рода *Serratula* серпухой венценосной по содержанию в листьях экдистерона заметно не отличается и составляет *S. centauroides* (1,69 %) и *S. coronata* (1,70 %), а в верхних частях стеблей и соцветиях в 2 раза выше, чем у *S. coronata* (Ануфриева и др., 1998; Воробьева и др., 2005). Количественное содержание в траве *S. centauroidis*: аминокислот 2,41 %, аскорбиновой кислоты 0,96 %, белка 1,24 %, органических кислот 4,29 %, полисахаридов 7,49 %, дубильных веществ 7,12 %. В составе *S. centauroidis* находятся витамины группы В: тиамин (19,70 мг/кг), рибофлавин (189,50 мг/кг), пантотеновая кислота (179,60 мг/кг), никотиновая кислота (273,00 мг/кг), пиридоксин (56,20 мг/кг), фолиевая кислота (34,80 мг/кг) (Цыбиктарова, 2016). Применяется в народной медицине в виде отваров при заболеваниях нервной системы: эпилепсии, повышенной нервной возбудимости, бессоннице и расстройствах желудочно-кишечного тракта (Красноборов и др., 1997). В экспериментах на животных доказано стресспротективное, ноотропное, анксиолитическое, антидепрессивное, анаболическое и иммуномодулирующее действие *S. centauroidis*; в опытах *in vitro* и *in vivo* выявлена выраженная антиоксидантная активность экстракта *S. centauroidis* (Свиридов, 2016).

Девясил высокий (*Inula helenium* L.), семейство Астровые (*Asteraceae*). В корнях содержится инулин (20-44 %), инуленин, псевдоинулин (Оленников, 2008; Trendafilova, 2010); моно- и сесквитерпеноиды (2,5-5,2 %) – 2-оксоалантолактон, 2-гидрокси-11, 13-дигидроизолантолактон, асперелин, 4-эпиизоинувисколид, томентозин, геленин, эупатолид; тритерпеноиды в подземн.ч. – фриделин, даммарадиенол (Zhao et al., 2009); стероиды в подземн.ч. – стигмастерин, глюкозид ß-ситостерина; фенолкарбоновые кислоты и их производные в подземн.ч. – метиловый эфир кофейной кислоты, цикориевая, кафтаровая кислоты, кофейная кислота (Olennikov, Tankhaeva, 2012); смолы, дубильные вещества, флавоноиды (Буданцев, Лесиовская, 2001); эфирное масло (до 4,5 %) имеет сложный состав – алантолактон, изоалантолактон, азулен, камфора, сантамарин, игалан (Blagojevic, Radulovic, 2012). Для лечения заготавливают корни и корневища. Отвары из корневища *I. helenium* обладают противовоспалительным и отхаркивающим действием, снижают секрецию желудочного сока. В научной медицине применяют при острых и хронических заболеваниях дыхательных путей, также при гастритах и язвенной болезни желудка и двенадцатиперстной кишки. Препарат «Алантон» экстракт из корней и корневищ девясила применяют при язвенной болезни желудка и 12-перстной кишки, эрозивном гастрите и пилородуодените. Установлено что экстракт *I. helenium* оказывает стресспротективное (Нестерова и др., 2003), антиоксидантное действие (Зеленская, 2006), обладает иммуномодулирующими свойствами (Цыдендамбаев, 2007). Проявляет антивирусную, антибактериальную, фунгицидную активность (O'Shea, 2008; Deriu, 2009). Сесквитерпеновые лактоны из *I. helenium* оказывают противоопухолевую активность (Li, 2012). Настой подземн.ч., экстракты и сесквитерпеноиды – обладают противовоспалительными (Кумышева, 2009), противогипоксическими свойствами (Нестерова и др., 2005).

Бадан толстолистный (*Bergenia crassifolia* L. Fritsch), семейство Камнеломковые (*Saxifragaceae*). В листьях содержатся фенолы и их

производные – гидрохинон 2-4 %, рододендрин и арбутин, содержание которого с возрастом увеличивается до 22 % (Pozharitskaya, 2007); кумарины в листьях – бергенин, эскулетин; дубильные вещества; в листьях производные фенолкарбоновой кислоты – эллаговая кислота. В листьях и корнях находятся флаваноиды – апегенин, рутин, кверцетин, дигидрокверцетин, кемпферол (Федосеева, 1998; Шилова, 2006; Данилов, 2012). В народной медицине бадан применяется как вяжущее, противолихорадочное и противовоспалительное средство. В эксперименте водный и спиртовой экстракт черных листьев бадана обладает диуретическими свойствами (Лубсандоржиева, 2003), сухой экстракт противовоспалительными (Шантанова и др., 2008) и антигипоксическими свойствами (Макаров, 2005). Также выявлены ноотропные (Емельянов и др., 1992), адаптогенные (Цыренжапова и др., 1994), стресспротективные свойства (Чурин и др., 2005), антиоксидантные (Шилова и др., 2006) и антибактериальные свойства (Данилов, 2012).

Сбор шиповника (*Rosa spp*.), семейство Розоцветные (*Rosaceae*). Особую ценность представляют плоды шиповника, в его мякоти содержится 4-6 % иногда до 17 % аскорбиновой кислоты, каротиноидов до 12,5 мг% (ликопин, лютеин, криптоксантин, тараксантин), рибофлавин, α- и β-токоферолы , витамины К и Р; пектиновые вещества (14,1 %); яблочная, лимонная, линоленовая (до 1,8 %) кислоты (Ламан, Копылова, 2017; Кьосев, 2011); флавоноиды в плодах – кверцитин, изокверцитин, кемпферол, тилирозид (Шнайдман, Кущинская, 1965). Лейкоантоцианидины: в плодах – лейкопеонидин (Головкина и др., 1968). Из-за разнообразия витаминов и большого содержания аскорбиновой кислоты плоды шиповника обладают выраженной биологической активностью. Благодаря синергизму с витамином Р, аскорбиновая кислота не разрушается и участвует в окислительно-восстановительных реакциях тканевого дыхания, обладает выраженными восстанавливающими свойствами за счет наличия в молекуле диенольной группы. Регулирует процессы метаболизма, являясь мощным

антиоксидантом. Аскорбиновая кислота уменьшает отложение холестерина в просвете сосудов, тем самым ингибирует процесс образования атероматозных бляшек. Препараты шиповника оказывают благотворное влияние на секрецию желудочного сока и переваривающую силу пепсина, укрепляют стенки сосудов и влияют на кроветворную функцию костного мозга. Плоды шиповника применяются при авитаминозах, бронхиальной астме, язвенной болезни желудка, при истощении организма, атеросклерозе, кровотечениях (Турищев, 2007). В традиционной тибетской медицине используется в качестве лечения туберкулеза, неврастении и артериосклероза. Экстракт и лейкоантоцианидины обладают антиоксидантными (Oktyabrsky et al., 2009), настой плодов – иммуномодулирующими свойствами (Новосёлов и др., 1994).

Эхинацея пурпурная (*Echinacea purpurea* L. Moench), семейство Астровые *(Asteraceae)*. В надземной части растения находятся следующие химические соединения: флавоноиды 2,5–2,7 % – кемферол-3-рутинозид, 3-рабиноз кверцетин, 3-глюкозид, 7-глюкозид, 3-ксолозилгалактозид, рутин; антоцианы 0,3–0,8 %, дубильные вещества 3,0–4,0 мг/мл; гидроксикоричные кислоты 0,12–0,15 % – цикориевая, хлоргеновая, кофеатная; микроэлементы – магний, цинк, марганец, медь, никель, молибден, кобальт; эфирные масла (0,15–0,50 %) (Брыкалов и др., 2008); полисахариды – инулин, фруктаны, гетероксиланы, арабинорамногалактаны; сапонины, полиины эфирных масел – эхинолон, алкиламиды ненасыщенных кислот – эхинацеин, фитостерины (Ильина, 2014). Основным механизмом действия эхинацеи является иммуномодулирующая и противовоспалительная активность. Ещё индейцы Северной Америки заметили ранозаживляющие и противовоспалительные свойства этой травы. Механизм действия связан с биологически активными веществами входящих в состав эхинации. Особая роль среди них принадлежит цикориевой и производным кофейной кислот – эхинацеину и эхинолону (Амелина, Ванштейн, 2017). Так усиление миграции фагоцитов и моноцитов к очагу инфекции, увеличение растворимости и циркуляции

иммунных комплексов зависит от наличия гидроксикоричных кислот, полиинов эфирных масел и алкиламидов ненасыщенных кислот входящих в состав эхинацеи. Угнетение активности циклооксигеназы, в результате чего снижается синтез медиаторов воспаления, связывают с наличием алкиламидов ненасыщенных кислот. Уменьшение сосудистой проницаемости в очаге воспаления связывают с наличием хлоргеновой и кофеатной кислот способных блокировать активность гиалуронидазы (Доценко и др., 2014). Наиболее известными лекарственными препаратами на основе эхинацеи являются Иммунал®, Иммунорм, Эстифан®, Эхинацея-ВИЛАР®, Иммунекс. Они обладают иммуномодулирующим, противовоспалительным и противовирусным действием.

Учитывая, что в состав комплексного растительного средства «Центафит» входит серпуха васильковая с наиболее выраженными стресспротективными, ноотропными, анксиолитическими, анаболическими свойствами (Свиридов, 2016); девясил с выраженными противовоспалительными (Кумышева, 2009), противогипоксическими (Нестерова и др., 2005), стресспротективными свойствами (Нестерова и др., 2003); бадан с выраженными противовоспалительными (Шантанова и др., 2008), адаптогенными (Цыренжапова и др., 1994), стресспротективными (Чурин и др., 2005) свойствами; шиповник как метаболическое средство с выраженными антиоксидантными (Oktyabrsky et al., 2009; Ламан, Копылова, 2017) свойствами; эхинацея с выраженными иммуномодулирующими (Амелина, Ванштейн, 2017) свойствами, можно предполагать, что комплексное растительное средство «Центафит» будет играть важную роль в адаптации к широкому спектру экстремальных воздействий и стрессовым нагрузкам.

ГЛАВА 2 МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

2.1 Характеристика исследуемого средства и модельные системы

Экстракт сухой «Центафит» представляет собой аморфный порошок темно-коричневого цвета со специфическим запахом, сладковатого вкуса, гигроскопичен, потеря в массе при высушивании не более 5 %. Получают из высушенного растительного материала, измельченного до 1-2 мм путем трехкратной экстракции 30/30/70 % этиловым спиртом. Растительный материал состоит из следующего состава (массовые части): серпухи васильковой травы-30, плоды шиповника-20, корневищ с корнями девясила высокого-20, черных листьев бадана толстолистного-10, эхинацеи пурпурной травы-20. Экстрагирование каждой фаз выполняется в течение 90 минут. Оптимальное соотношение сырья и экстрагента является 1:12, температурный режим составляет 60 ˚С. Объединенные кубовые остатки от трех извлечений сепарируют, доводят до 1/5 части и высушивают в вакуум-сушильном шкафу при 65-70 ˚С в течение 8 часов. Выход готового продукта составляет 40,09 % от массы растительного материала. Содержание суммы экстрактивных веществ составляет 4,38 %, арбутина 0,22 %, содержание суммы флавоноидов в пересчете на лютеолин-7-гликозид составляет 0,15 % (Николаева и др., 2018).

Животные получали экстракт сухой «Центафит» *per os* с помощью специального металлического зонда с расширением в виде оливы на конце трубки в дозах 50, 100, 150 и 200 мг/кг в форме водного раствора один раз в сутки. Конечный объем составлял 10 мл/кг животного. В качестве препарата сравнения применяли деалкоголизированный раствор левзеи экстракт жидкий (ЛЭЖ) (*Rhaponticum carthamoides* Willd. Iljin) (производитель «Камелия НПП»), в дозе 5 мл/кг. Животныеи контрольной группы получали дистиллированную воду в эквиобъемном количестве в аналогичном режиме.

В экспериментальных исследованиях были также использованы модельные системы – суспензия эритроцитов, суспензия липосом и

биохимические тест-системы. Суспензию эритроцитов готовили из свежей эритроцитарной массы донорской крови путем трехкратного отмывания в физиологическом растворе в соотношении 1:10 (Дубинина и др., 1983). Суспензию липосом получали из свежего куриного яичного желтка путем суспендирования с фосфатным буфером (pH 7,4) в соотношении 1:5 на магнитной мешалке в течение 15 минут.

2.2 Условия проведения эксперимента и лабораторные животные

Содержание животных соответствовало «Правилам лабораторной практики» (GLP) и Приказу МЗ РФ № 199н от 01.04.2016 «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Животные находились в условиях сертифицированного вивария на сбалансированном пищевом рационе. Экспериментальные исследования были выполнены на 540 белых крысах линии Wistar с исходной массой 170-210 г обоего пола, на 24 неполовозрелых крысах массой 80-100 г и 90 мышах-самцах линии F1 (CBAxC57Bl/6) массой 18-20 г. Перед началом экспериментов животные, распределялись по группам с учетом принципа рандомизации. Исследования проводились по протоколу экспериментальной апробации и согласованы с этической комиссией ИОЭБ СО РАН (протокол № 6 от 12.10.2016) и соответствовали Правилам «Европейской конвенции о защите позвоночных животных, используемых для экспериментальных или в иных научных целях», ETS № 123 от 18.03.1986 (Страсбург, 1986).

2.3 Модели и методы исследования

Изучение острой токсичности экстракта сухого «Центафит» проводили по методу Кербера. Острую токсичность оценивали при однократном внутрибрюшинном и внутрижелудочном введении (Беленький, 1963) сухого экстракта в диапазоне доз от 3000 до 6000 мг/кг в объеме 1 мл/100г. Наблюдение за общим состоянием животных осуществляли в течение 14 дней.

Класс токсичности определяли по классификациям К.К. Сидорова (1970) и (Авдеева и др.,2015).

Оценку антигипоксической активности проводили на моделях острой гипоксии – гемическая, гистотоксическая и нормобарическая с гиперкапнией. Гемическую гипоксию вызывали однократным внутрибрюшинным введением крысам раствора нитрата натрия в дозе 70 мг/кг (Костюченков, Фаращук, 1982). Гистотоксическую гипоксию проводили внутрибрюшинным введением натрия нитропруссида в дозе 20 мг/кг (Лукьянова, 1989). Нормобарическую гипоксию с гиперкапнией проводили путем помещения животных в герметичные банки объемом 1000 см³, где они находились до появления признаков терминальной стадии гипоксии: резко замедленное дыхание, судороги, одиночные глубокие вдохи, атония задних конечностей (Кораблев, Лукиенко, 1976).

Интенсивные физические нагрузки вызывали плаванием животных с грузом, составляющим 7 % от массы тела, до полного утомления. Критерием полного утомления служило погружение животного под воду в течение 10 секунд.

Острый иммобилизационный стресс воспроизводили путем фиксации животных в положении на спине в течение 18 ч. (Юматов, Скоцеляс, 1979).

Модель хронического эмоционального стресса проводили в течение 4 недель (Papp et al., 1991). В данной модели крыс подвергали разным видам стрессовых воздействий однократно в сутки в утренние часы (с 8 до 10 часов) или вечером (с 16 часов), например: 1-й день недели – крыс помещали на возвышенную тесную сухую площадку (20 × 30 см), расположенную в бассейне с холодной водой – 8-10 °С (1 час); 2-й день – иммобилизация крыс в пенале (1 час); 3-й – подвешивание крыс за шейную складку (5 мин); 4-й день – крыс помещали в клетку с полом, залитым холодной водой (1 час); 5-й день – депривация воды и пищи (с вечера); 6-й день – наклон «домашней» клетки под углом в 45° (с вечера), 7-й день – без стресса. Стрессовые

процедуры осуществляли в стохастическом режиме (чередуя время проведения и вид стрессора) по одинаковой для каждой группы схеме.

Для оценки стрессовых воздействий определяли выраженность триады Селье: увеличение надпочечников, уменьшение иммунных органов – тимуса и селезенки, появление язвенных повреждений в слизистой оболочке желудка. Желудок разрезали по большой кривизне, и оценивали повреждения в слизистой оболочке как кровоизлияния, эрозии или полосовидные язвы. Для каждого повреждения слизистой оболочки желудка вычисляли индекс Паулса (ИП) по формуле:

ИП=А×В/100 (Амосова и др., 1998)

А – среднее количество деструкций в группе

В – процент животных с повреждениями в группе

Антидепрессивное действие изучали в тестах «принудительного плавания» и «подвешивание крыс за хвост». Тест «принудительного плавания» проводили с помощью прозрачного цилиндра наполненного водой диаметром 18 см. В течение 10 минут регистрировали продолжительность эпизодов неподвижности (время иммобильности). В модели «подвешивание за хвост» крыс фиксировали к горизонтальной перекладине так, чтобы они не касались головой поверхности стола, в течение 6 минут. Регистрировали продолжительность эпизодов неподвижности и латентное время иммобильности (время до первого эпизода неподвижности) (Porsolt et al., 1978; Воронина, 2017 в).

Для оценки влияния испытуемого средства на уровень стрессовых гормонов в сыворотке крови определяли содержание АКТГ, кортикостерона, адреналина, норадреналина методом твердофазного иммуноферментного анализа с использованием анализаторов «STAT FAX–2100» (AWARENESS TECHNOLOGY INC, USA) (Камышников, 2015).

Для анаболического действия исследуемого средства определяли прирост массы тела у неполовозрелых крыс, массу четырехглавой мышцы бедра, миокарда и печени. В гомогенате скелетной мышы определяли

содержание общего белка (Bradford, 1976), РНК и ДНК – по методу Блобеля и Поттера в модификации М. Г. Трудолюбовой (1977); в гомогенате печени – концентрацию гликогена (Seifter, 1950); в плазме крови – концентрацию соматотропного гормона (СТГ), методом твердофазного иммуноферментного анализа на анализаторе «STAT FAX–2100»; в сыворотке крови – концентрацию глюкозы, триацилглицеридов (ТАГ), холестерина, липопротеидов высокой плотности (ЛПВП), липопротеидов низкой плотности (ЛПНП) на анализаторе «SAPPHIRE–400».

Для оценки актопротекторного действия испытуемого фитосредства в гомогенате печени определяли содержание гликогена по методу S. Seifter (1950); в сыворотке крови определяли содержание глюкозы, триглицеридов (ТГ), активность лактакдегидрогеназы (ЛДГ) и креатинфосфокиназы (КФК) на анализаторе «SAPPHIRE 400».

Интенсивность свободнорадикального окисления (СРО) оценивали по накоплению малонового диальдегида (МДА) в сыворотке крови (Стальная, Гаришвили, 1977). О состоянии антиоксидантной системы (АОС) судили по активности супероксиддисмутазы (СОД) в эритроцитах крови (Чевари и др., 1985; Макаренко, 1988), каталазы в сыворотке крови (Королюк и др., 1988) и восстановленного глутатиона (ВГ) в цельной крови (Akerboom, 1981; Cappiello et al., 2013).

Для оценки энергетических процессов в гомогенате скелетной мышцы оценивали содержание аденозинтрифосфата (АТФ) (Алейникова, Рубцова, 1988), молочной (МК) и пировиноградной кислот (ПВК) (Колб, Камышников, 1976) с расчетом окислительно-восстановительного потенциала по отношению лактатат/пируват.

Для определения влияния «Центафита» на функциональное состояние ЦНС были использованы методики с ненаказуемым поведением (тест «открытое поле», «светло/темная камера», «приподнятый крестообразный лабиринт» ПКЛ) (Воронина и др., 2012 б) и с наказуемым поведением («конфликтная ситуация по *Vogel*» и условная реакция пассивного

избегания). Для оценки когнитивных функций у животных использовали методику условной реакции пассивного избегания (УРПИ) (Воронина, 2012а). Влияние «Центафита» на ГАМК-ергическую систему исследовали с помощью метода «конфликтной ситуации по *Vogel*» (Воронина, 2012б). С целью блокады $ГАМК_А$-рецептора использовали его антогонист бикукуллин (Sigma Aldrich, USA) (1,0 мг/кг, внутрибрюшинно), а для блокады хлорного канала ГАМК-бензодиазепинового рецепторного комплекса – пикротоксин (Sigma Aldrich, USA) (1,0 мг/кг, внутрибрюшинно) (Воронина и др., 2012 б).

Иммуномодулирующее действие исследуемого средства изучали на животных, находящихся в состоянии иммуносупрессии, вызванной цитостатиком азатиоприном, который вводили в дозе 50 мг/кг перорально 1 раз в сутки в течение 5 дней (Лазарева, Алехин, 1985). Действие испытуемого средства на состояние клеточного звена иммуного ответа оценивали в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) согласно стандартной методике Мышей сенсибилизировали внутрибрюшинным введением 0,1 % взвеси эритроцитов барана (ЭБ) в физиологическом растворе. На 4 сутки под подошвенный апоневроз задней лапки вводили разрешающую дозу антигена – 50 мкл 50 % взвеси ЭБ. В контралатеральную лапку инъецировали физиологический раствор в том же объеме. Оценку реакции ГЗТ проводили спустя 24 часа по разнице масс опытной и контрольной лап. Индекс реакции ГЗТ ($И_р$) рассчитывали по формуле: $И_р = (М_{оп} – М_к) / М_к)×100\%$, где $М_{оп}$ – масса опытной лапы, $М_к$ – масса контрольной лапы (Хаитов и др., 2012б). Состояние гуморального иммунитета оценивали по количеству антителообразующих клеток (АОК), определяемых методом локального гемолиза по A. J. Cunningham (1965). Мышей иммунизировали внутрибрюшинно эритроцитами барана в дозе $2x10^8$ клеток на мышь. Реакцию ставили на 5-е сутки после иммунизации. Величину иммунного ответа оценивали по числу АОК на селезенку и на 10^6 клеток с ядрами. Состояние макрофагального звена иммунного ответа оценивали в реакции фагоцитоза перитонеальных макрофагов в отношении

частиц коллоидной туши (Хаитов и др., 2012 а). Оптическую плотность лизата клеток перитонеального экссудата, отражающую количество туши, поглощенной перитонеальными макрофагами, определяли на спектрофотометре «CECIL–2011» при длине волны 620 нм.

В модельных системах *in vitro* оценивали мебраностабилизирующую, антиоксидантную и антирадикальную активность исследуемого средства. Мембраностабилизирующую активность исследуемого средства оценивали в моделях перекисного и осмотического гемолиза с 1%-ной суспензией эритроцитов донорской крови (Er/m). Перекисный гемолиз эритроцитов вызывали реактивом Фентона (Repka, 1991); осмотический гемолиз – добавлением в инкубационную среду воды дистиллированной (Ковалев и др., 1986). Инкубационная среда состояла из 1 % суспензии донорских отмытых эритроцитов и фосфатного буфера (pH = 7,4). Перекисный гемолиз вызывали добавлением в инкубационную среду реактива Фентона: $FeSO_4 \times 7H_2O$ – 0,02 мг/мл; H_2O_2 – 0,02 мг/мл (в пересчете на 100 % раствор перекиси водорода). Компоненты, входящие в состав реактива Фентона, были использованы в минимальных концентрациях, вызывающих полный лизис 1 % суспензии эритроцитов. Для получения осмотического гемолиза к суспензии эритроцитов добавляли равный объем дистиллированной воды. Пробы инкубировали в течение 2 часов, с последующим спектрофотометрированием при длине волны 540 нм. Далее, в каждую пробу вносили 100 мкл 10 % раствора додецилсульфата натрия и пробы повторно спектрофотометрировали (контроль).

Антиоксидантную активность комплексного растительного средства оценивали по влиянию фитоэкстракта на процесс металлкатализируемой модификации белков в модельной биологической системе желточных липопротеидов (Клебанов, 1988). Модельная система, представляет собой суспензию желточных липопротеидов, полученную из куриного желтка содержащую липопротеиновые комплексы, сходные с липидами крови. Процесс СРО в пробах индуцировали добавлением раствора $FeSO_4 x H_2O$.

Величину антиокислительной активности выражали через концентрацию исследуемого фитосредства, при которой наблюдается 50 % ингибирование процесса СРО – IC_{50} (мкг/мл). Антиоксидантную активность исследуемого средства также оценивали по степени его влияния на динамику перекисной деструкции β-каротина (ПДβК) в системе ДМСО-H_2O_2-олеиновая кислота (Olennikov, 2007).

Антирадикальную активность оценивали по отношению к стабильному 2,2-дифенил-1-пикрилгидразил ($DPPH^{\cdot}$) радикалу (Adesanwo et al., 2013); по отношению к супероксидным радикалам ($O_2^{\cdot -}$) в неэнзиматической системе феназинметосульфат/НАДН (Rahini, Anuradha, 2014); а так же по отношению к молекулам NO (Rahini, Anuradha, 2014). Fe^{2+}– хелатирующую активность экстракта сухого определяли с использованием о-фенантролинового метода (Оленников и др., 2008). В качестве препаратов для сравнения использовали природные полифенолы, обладающие мощным антиоксидантным действием – это кверцетин, рутин, арбутин и аскорбиновую кислоту (*Sigma Aldrich, USA*).

Результаты исследований статистически обработаны с определением средней величины (M) и ошибки (m). Для оценки значимости отличий между выборками с распределением, приближающимся к нормальному, использовался t-критерий Стьюдента. Данные считались статистически значимыми при $p \leq 0,05$ (Сергиенко, Бондарева, 2006).

ГЛАВА 3 ИССЛЕДОВАНИЕ СПЕКТРА АДАПТОГЕННОЙ АКТИВНОСТИ ЭКСТРАКТА СУХОГО «ЦЕНТАФИТ»

3.1 Определение острой токсичности экстракта сухого «Центафит»

Опыты проведены на крысах линии *Wistar* массой 170–190 г обоего пола. Острую токсичность «Центафита» оценивали с использованием метода Кербера при однократном внутрибрюшинном и внутрижелудочковом введении экстракта сухого в дозах 3000, 4000, 5000 и 6000 мг/кг в объёме 10 мл/кг. Наблюдение за общим состоянием животных и их поведением осуществляли в течение 2-х недель. Впервые сутки после введения животные находились под постоянным наблюдением.

Установлено, что при внутрижелудочном и внутрибрюшинном введении во всех исследованных дозах гибели животных в течение всего периода наблюдения не отмечалось. При внутрибрюшинном введении наиболее высоких доз испытуемого фитоэкстракта (5000–6000 мг/кг) в течение 1-2 суток наблюдали видимые признаки интоксикации животных в виде гиподинамии, снижения аппетита, учащения дыхания. Вскрытие животных, осуществленное через 14 суток, показало, что визуально внутренние органы не отличались от таковых у интактных крыс. При патоморфологическом исследовании у животных, получавших фитоэкстракт в высоких дозах, отмечали нарушения гемодинамики в виде полнокровия сосудов, а также единичные мелкоточечные кровоизлияния в слизистой оболочке желудка.

Таким образом, экстракт сухой «Центафит» относится к практически нетоксичным веществам (Сидоров, 1970; Авдеева, 2015).

3.2 Оценка антигипоксической активности экстракта сухого «Центафит»

3.2.1 Влияние на устойчивость к острой гемической гипоксии

Эксперименты проведены на 40 крысах линии *Wistar* массой 170–190 г обоего пола. Модель гемической гипоксии воспроизводили путем однократного внутрибрюшинного введения животным водного раствора нитрита натрия в дозе 70 мг/кг (LD_{50}) (Костюченков, Фаращук, 1982). Животным трех опытных групп исследуемое средство в виде водного раствора вводили внутрижелудочно в дозах 50, 100 и 200 мг/кг в объеме 10 мл/кг 1 раз в сутки за 30 минут до кормления, в течение 7 дней. Крысам контрольной группы вводили дистиллированную воду (10 мл/кг) в аналогичном режиме. В качестве препарата сравнения использовали деалкоголизированный раствор ЛЭЖ в дозе 5 мл/кг. Полученные результаты представлены на рисунке 3.2.1.1.

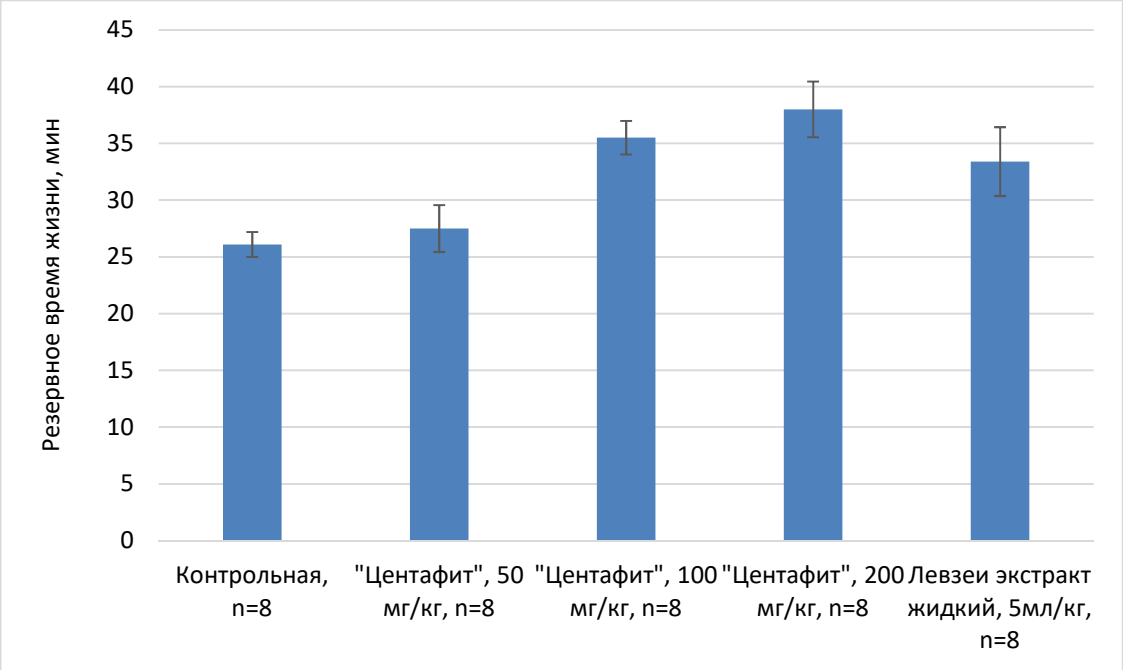

Рисунок 3.2.1.1 – Влияние «Центафита» на устойчивость белых крыс к острой гемической гипоксии

Антигипоксическую активность оценивали, по резервному времени – продолжительность жизни животных после инъекции нитрита натрия до последнего агонального вдоха. После введения гипоксантов животные находились под непрерывным наблюдением (Рисунок 3.2.1.1).

На фоне курсового введения животным «Центафита» в дозах 100 и 200 мг/кг, резервное время жизни животных возросло на 36 % и 45 % по сравнению с данными крыс контрольной группы. В дозе 50 мг/кг не отмечалось достоверного влияния исследуемого средства на увеличение резервного времени жизни белых крыс. Препарат сравнения оказывал подобное действие «Центафиту» в дозе 100 мг/кг по резервному времени жизни.

3.2.2 Влияние на устойчивость к острой гистотоксической гипоксии

Эксперименты были проведены на 40 крысах линии *Wistar* массой 170–190 г обоего пола. Гистотоксическую гипоксию создавали путем однократного внутрибрюшинного введения нитропруссида натрия в дозе 20 мг/кг (LD_{100}) животным всех групп (Лукьянова, 1989).

Крысам опытных групп «Центафит» вводили внутрижелудочно в дозах 50, 100 и 200 мг/кг в объеме 10,0 мл/кг 1 раз в сутки в течение 7 дней за 30 минут до кормления. Животные контрольной группы принимали дистиллированную воду (10 мл/кг) по аналогичной схеме. В качестве препарата сравнения животные получали деалкоголизированный раствор ЛЭЖ в дозе 5 мл/кг. Устойчивость животных к гипоксии оценивали по резервному времени жизни, после инъекции нитропруссида натрия в условиях гипоксии.

При гистотоксической гипоксии достоверные различия были получены в группе животных, получавших «Центафит» в дозе 100 мг/кг. Резервное время жизни у животных данной группы было больше на 15 %, по сравнению с показателями контрольной группы. Полученные данные приведены на рисунке 3.2.2.1.

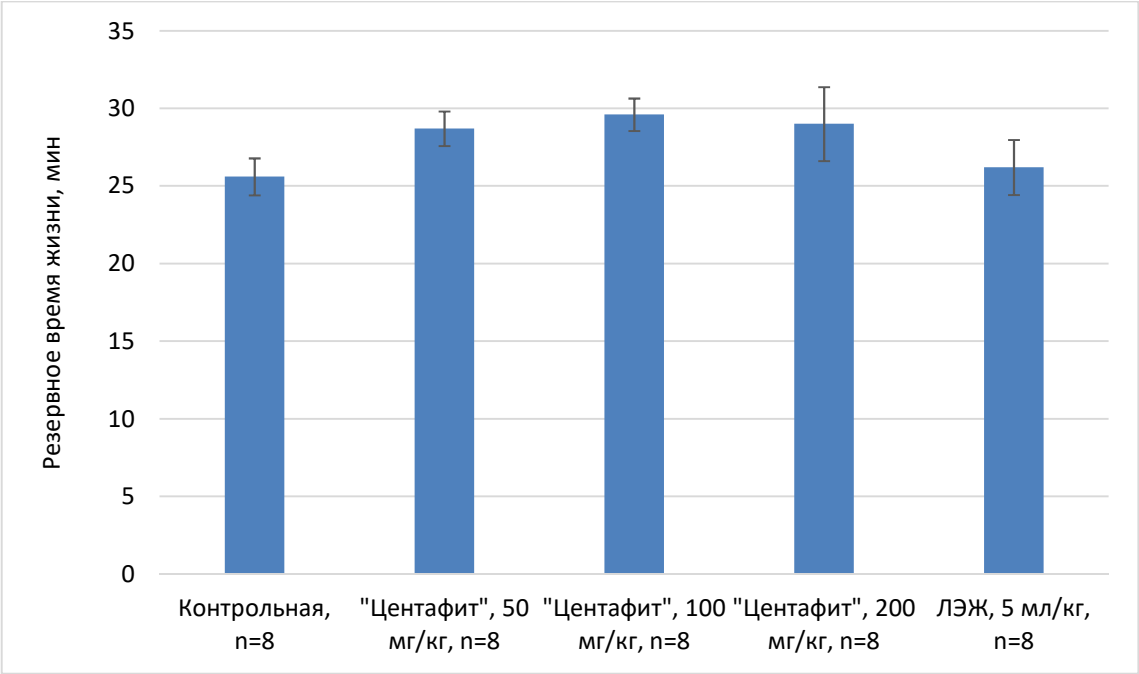

Рисунок 3.2.2.1 – Влияние «Центафита» на устойчивость белых крыс к острой гистотоксической гипоксии

3.2.3 Влияние на устойчивость к острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией

Эксперименты проведены на 40 крысах линии *Wistar* массой 170–190 г обоего пола. Нормобарическую гипоксию с гиперкапнией создавали постепенным снижением содержания уровня кислорода во вдыхаемом воздухе и повышением парциального давления углекислого газа (pCO_2) за счет дыхания животных в герметичной камере, объемом 1000 см³ (Кораблев, Лукиенко, 1976). Определяли резервное время жизни крыс в условиях нормобарической гипоксии с гиперкапнией.

Животным опытных групп вводили водный раствор экстракта «Центафит» внутрижелудочно в дозах 50, 100 и 200 мг/кг 1 раз в сутки 7 дней за 30 минут до приема пищи. Животные контрольной группы принимали дистиллированную воду (10 мл/кг) в аналогичном режиме. Группа сравнения получала деалкоголизированный раствор ЛЭЖ в дозе 5 мл/кг.

Курсовое введение животным «Центафита» в дозах 100 и 200 мг/кг при нормобарической гипоксии с гиперкапнией увеличивало резервное время жизни животных на 25 % и 21 % соответственно, по сравнению с показателями контрольной группы. Введение исследуемого средства в дозе 50 мг/кг и препарата сравнения не приводило к достоверному увеличению резервного времени жизни белых крыс. Данные приведены на рисунке 3.2.3.1.

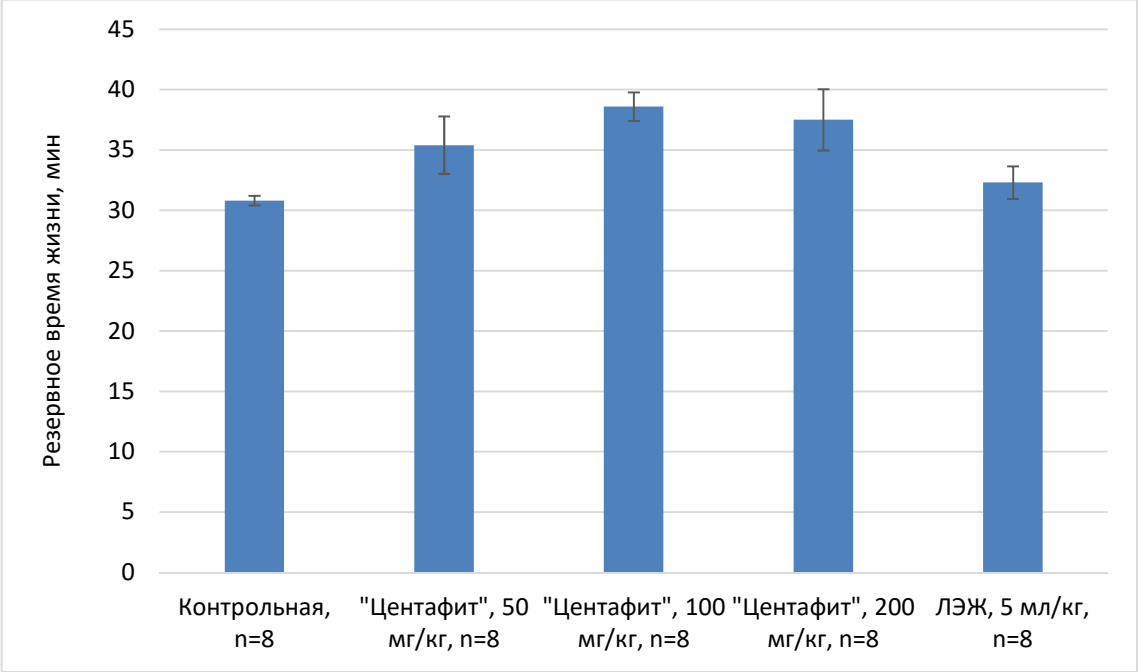

Рисунок 3.2.3.1 – Влияние «Центафита» на устойчивость белых крыс к острой нормобарической гипоксии с гиперкапнией

Таким образом, применение фитосредства «Центафит» в течение 7 дней повышает устойчивость лабораторных крыс к гемической, гистотоксичекой и нормобарической гипоксии с гиперкапнией, удлиняя резервное время жизни животных. Наиболее выраженное антигипоксические действие «Центафит» проявляет в дозе 100 мг/кг. Антигипоксическая активность «Центафита» в указанной дозе выше, чем у препарата сравнения – ЛЭЖ.

3.3. Исследование влияния экстракта сухого «Центафит» на устойчивость к интенсивным физическим нагрузкам

Исследования проведены на белых крысах линии *Wistar* массой 190–210 г обоего пола. Животные были распределены на четыре группы: 1-я группа – интактные животные, не подвергнутые физической нагрузке (n=10); 2-я – контрольные животные, подвергнутые интенсивным физическим нагрузкам (ИФН) (n=10); 3-я – животные опытной группы I, получавшие исследуемое средство + ИФН (n=10); 4-я – животные опытной группы II, получавшие препарат сравнения + ИФН (n=10). Крысам опытной группы I вводили внутрижелудочно раствор «Центафита» в дозе 100 мг/кг в объеме 10 мл/кг в течение недели (1 раз в сутки), последний раз за 1 час до проведения теста; животным опытной группы II – деалкоголизированный раствор левзеи экстракт жидкий в дозе 5 мл/кг, по вышеуказанной схеме. Крысам контрольной группы вводили дисстилированную воду в эквиобъемном количестве по аналогичной схеме. Влияние исследуемого средства на интенсивность физических нагрузок определяли методом плавания с грузом, составляющим 7 % от массы тела, до полного утомления. Критерием полного утомления служило погружение животного под воду в течение 10 секунд. После этого животных под легким эфирным наркозом декапитировали для выявления механизма устойчивости к интенсивным физическим нагрузкам. В гомогенате скелетной мышцы определяли содержание АТФ (Алейникова, Рубцова, 1988), молочной и пировиноградной кислот (Колб, Камышников, 1976) с расчетом окислительно-восстановительного потенциала по отношению лактатат/пируват; в гомогенате печени – содержание гликогена (Seifter, 1950); в сыворотке крови – содержание глюкозы, триглицеридов (ТГ), активность лактатдегидрогеназы (ЛДГ) и креатинфосфокиназы (КФК) на анализаторе «SAPPHIRE 400» (Япония). Для оценки процессов СРО и состояния АОС определяли содержание МДА в сыворотке крови (Стальная, Гаришвили, 1977),

активность каталазы в сыворотке крови (Королюк и др., 1988), ВГ в цельной крови (Akerboom, 1981; Cappiello et al., 2013) и активность СОД в эритроцитах крови (Чевари и др., 1985).

Исследование фармакотерапевтической эффективности «Центафита» при интенсивной физической нагрузке выявило, что его курсовое применение в дозе 100 мг/кг приводит к увеличению физической выносливости крыс, в результате чего время плавания животных до полного утомления повышается на 37 % по сравнению с данными в контрольной группе. Референтный препарат оказывал сопоставимое с опытным средством влияние (Рисунок 3.3.1).

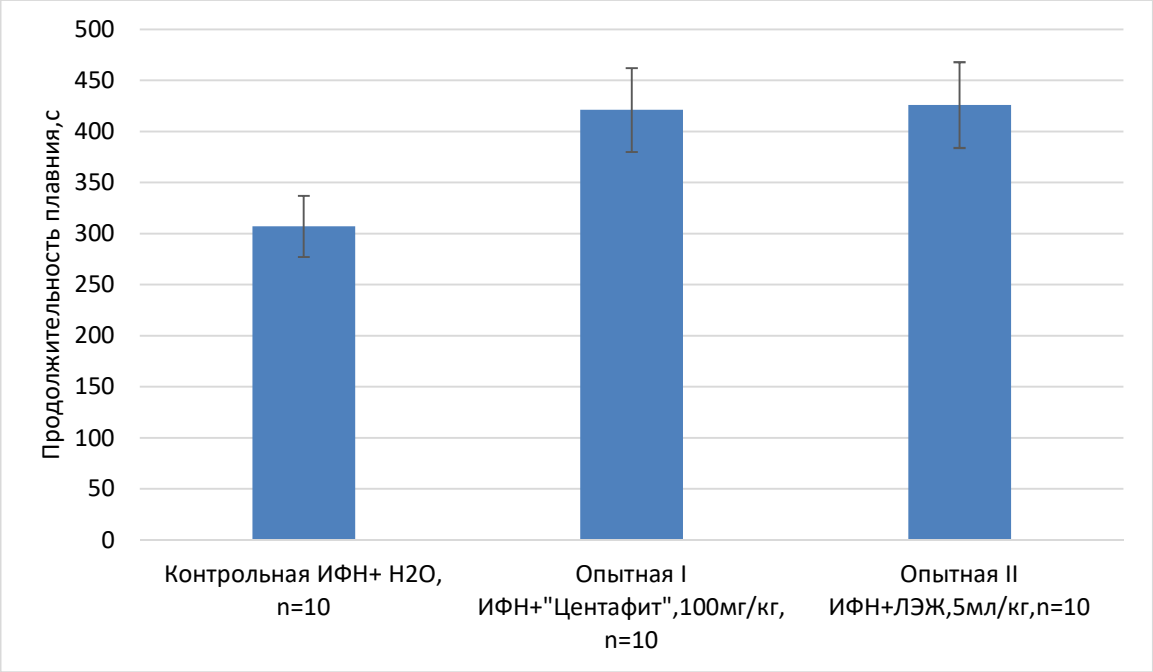

Рисунок 3.3.1 – Влияние «Центафита» на продолжительность плавания белых крыс с 7 % нагрузкой

На фоне ИФН у крыс контрольной группы отмечается повышение концентрации МДА в 1,5 раза и существенное снижение активности каталазы в 1,2 раза, СОД в 1,8 раза и ВГ в 2,3 раза по сравнению с данными интактной группы (Таблица 3.3.1). Всё это свидетельствует о развитии СРО и угнетении активности эндогенной АОС организма.

Таблица 3.3.1 – Влияние «Центафита» на интенсивность процессов свободнорадикального окисления и состояние антиоксидантной системы организма белых крыс на фоне интенсивной физической нагрузки

Показатели	Группы животных			
	Интактная, n=10	Контрольная (ИФН+H_2O), n=10	Опытная I (ИФН+«Центафит», 100мг/кг), n=10	Опытная II (ИФН+ЛЭЖ, 5мл/кг), n=10
МДА, мкмоль/л	10,4 ± 1,03	16,0 ± 0,91	13,0 ± 0,31*	12,8 ± 0,40*
Каталаза, мкат/л	25,4 ± 0,49	20,3 ± 0,15	23,1 ± 1,13*	23,0 ± 0,90*
В/глутатион, мкмоль/л	440,6 ± 21,73	188,6 ± 15,22	306,5± 24,12*	393,1 ± 30,15*
СОД, усл. ед.	1,7±0,15	0,9±0,10	1,4±0,12*	1,5±0,14*

Примечание. Здесь и далее: * различия значимы по сравнению с контролем при $p < 0,05$; ЛЭЖ – левзея экстракт жидкий, ИФН – интенсивная физическая нагрузка; n-количество животных в группе.

Применение «Центафита» приводит к менее выраженным изменениям показателей СРО и параметров антиоксидантной защиты. Об ингибировании процессов перекисного окисления липидов (ПОЛ) свидетельствует снижение уровня МДА в сыворотке крови на 19 % относительно показателя контрольной группы. Уровень антирадикальной защиты возрастал в виде увеличения активности СОД на 56 %, каталазы на 14 % и также содержание ВГ на 63 % по сравнению с данными контрольной группы животных, что говорит об улучшении работы антиоксидантной системы организма под влиянием «Центафита». Препарат сравнения оказывает аналогичную активность с испытуемым средством (Таблица 3.3.1).

Физические нагрузки, приводят к недостатку кислорода в длительно работающих мышцах, что сопровождается большим расходом энергии и уменьшением концентрации АТФ, а также увеличением уровня молочной кислоты. Возникающее утомление скелетной мускулатуры при длительной

физической нагрузке происходит за счет того, что восстановление энергии происходит в анаэробных условиях (Таблица 3.3.2).

Таблица 3.3.2 – Влияние «Центафита» на биохимические показатели белых крыс на фоне интенсивной физической нагрузки

Показатели	Группы животных			
	Интактная n=10	Контрольная (ИФН+H_2O), n=10	Опытная I (ИФН+«Центафит»,100 мг/кг), n=10	Опытная II (ИФН+ЛЭЖ, 5 мл/кг), n=10
МК, мкмоль/г	2,1 ± 0,17	5,0 ± 0,31	2,9 ± 0,25*	3,1 ± 0,29*
ПВК, мкмоль/г	0,5 ± 0,05	0,7 ± 0,05	0,5 ± 0,04*	0,5 ± 0,05*
Лактат/пируват	4,2 ± 0,15	7,5 ± 0,25	5,5 ± 0,24	5,9 ± 0,28
Гликоген в печени, мг%	5717,0 ± 133,30	4002,0 ± 54,40	4829,0 ± 32,30*	4767,0 ± 27,30*
АТФ в скелетной мышце, мкмоль/г	4,5 ± 0,13	3,0 ± 0,15	3,9 ± 0,36*	3,8 ± 0,22*
Триглицериды, ммоль/л	0,7 ± 0,07	1,1 ± 0,09	0,8 ± 0,11*	0,8 ± 0,13
Глюкоза, ммоль/л	5,6 ± 0,49	7,6 ± 0,71	11,7 ± 1,09*	10,2 ± 0,86*
ЛДГ, ед/л	495,5 ± 42,06	1034,6 ± 91,82	759,5 ± 42,07*	736,0 ± 69,81*
КФК, ед/л	697,8 ± 46,81	2245,4 ± 204,72	1407,6 ± 39,20*	1301,2±151,01*

Этот путь энергетически менее выгодный по сравнению с аэробным гликолизом. В результате анаэробного гликолиза большое количество пировиноградной кислоты превращается в молочную кислоту. В нашем исследовании, наблюдается уменьшение АТФ на 33 % и увеличение уровня молочной кислоты в 2,4 раза в группе контроля относительно интактных животных. Отношение лактат/пируват также выросло на 1,8 раза. Усиленная физическая работа приводит к снижению углеводных запасов, что проявилось в уменьшении содержания гликогена в печени на 30 % у контрольных животных относительно крыс, которые не были подвергнуты физической нагрузке (Таблица 3.3.2).

Курсовое применение экстракта сухого «Центафит» привело к увеличению физической выносливости крыс в результате активации ресинтеза АТФ. Содержание АТФ в скелетной мышце было на 30 % выше по сравнению с животными контрольной группы. Также отмечалось снижение молочной кислоты на 1,7 раза, сопровождаемое уменьшением соотношения МК/ПВК в среднем на 1,4 раза. Мышечная работа возрастала за счет увеличения запасов гликогена в печени при применении «Центафита» на 21 % и уровня глюкозы в крови в 1,5 раза по сравнению с контрольной группой. Референтный препарат оказывал однонаправленное с полиэкстрактом действие на нормализацию энергетических процессов в скелетной мышце.

В контрольной группе на фоне ИФН наблюдается повышение уровня триглицеридов в 1,6 раза по сравнению с интактными животными, что может говорить о недостаточности энергообеспечения в интенсивно работающих мышцах и подключения липолиза как альтернативного пути получения энергии. При применении «Центафита» уровень триглицеридов в сыворотке крови опытных животных соответствовал таковому показателю интактных животных.

При длительной интенсивной физической нагрузке в скелетной мускулатуре как было сказано выше, происходит развитие патологического процесса СРО с активацией перекисного окисления липидов, что приводит к нарушению проницаемости клеточных мембран миоцитов вплоть до их разрушения. Вследствие этого повышается уровень тканевых ферментов в крови. Так у крыс контрольной группы на фоне ИФН наблюдалось увеличение ЛДГ и КФК в 2 и 3 раза соответственно по сравнению с интактной группой. При применении «Центафита» в опытной группе уровень ЛДГ и КФК снижается на 1,4 и 1,6 раза соответственно по сравнению с показателями животных контрольной группы (Таблица 3.3.2).

Таким образом, курсовое введение экстракта сухого «Центафит» в дозе 100 мг/кг оказывает выраженное актопротекторное действие, о чем свидетельствует увеличение продолжительности плавания животных до полного утомления на 37 % по сравнению с крысами в контрольной группе. Повышение физической выносливости, обусловлено его ингибирующим влиянием на процессы СРО, а также активацией антиоксидантной защиты организма; оптимизацией энергетического обмена в результате активации ресинтеза АТФ за счет перехода с гликолитического пути на более выгодный путь окислительного фосфорилирования, вследствие чего содержание АТФ в скелетной мышце увеличилось на 30 %; увеличением содержания углеводных запасов, уменьшением выраженности метаболического ацидоза. Наряду с этим установлено цитопротекторное действие исследуемого средства, которое сопровождается снижением уровня ЛДГ и КФК по сравнению с контрольной группой животных.

3.4 Изучение анаболического действия экстракта сухого «Центафит»

Экспериментальное исследование проведено на 24 неполовозрелых крысах линии *Wistar* массой 80–100 г обоего пола. Вначале исследования каждую крысу взвешивали, для определения начальной массы тела. Животные были распределены на три группы: 1-я группа – контрольная группа животных получавших дистиллированную воду (n=8); 2-я – животные опытной группы I, получавшие «Центафит» в дозе 100 мг/кг в течение 2-х недель (n=8); 3-я – животные опытной группы II, получавшие деалкоголизированный раствор ЛЭЖ в дозе 5 мл/кг, служивший препаратом сравнения, по вышеуказанной схеме (n=8). После 2-х недель исследования производили повторное взвешивание животных для определения абсолютного прироста массы тела. Животных выводили из эксперимента декапитацией под легким эфирным наркозом, после чего внутренние органы – печень, бедренная мышца, сердце взвешивались с последующей заморозкой в жидком азоте. В гомогенате скелетной мышы определяли содержание общего белка (Bradford, 1976), РНК и ДНК – по методу Блобеля и Поттера в модификации М.Г. Трудолюбовой (1977); в гомогенате печени – концентрацию гликогена (Seifter, 1950); в плазме крови – концентрацию СТГ; в сыворотке крови – концентрацию глюкозы, ТАГ, холестерина, ЛПВП, ЛПНП.

По данным таблицы 3.4.1 исследуемое растительное средство обладает анаболическим действием на растущий организм белых крыс. Увеличение массы тела животных опытной группы было достоверно на 31 % больше, чем в контрольной группе. Прирост массы тела белых крыс происходил в основном за счет увеличения скелетной мускулатуры в результате повышения концентрации в них белка (Таблица 3.4.1).

Таблица 3.4.1 – Влияние «Центафита» на прирост массы тела и относительную массу органов неполовозрелых крыс

Показатели		Группы животных		
		Контрольная, (H_2O), n=8	Опытная I («Центафит», 100 мг/кг), n=8	Опытная II (ЛЭЖ, 5 мл/кг), n=8
Прирост массы тела, г		39,0 ± 1,52	50,9 ± 3,02*	51,6 ± 3,87*
Масса органов, мг/100 г животного	Печень	5,0 ± 0,25	4,8 ± 0,31	4,7 ± 0,29
	Сердце	0,6 ± 0,03	0,5 ± 0,04	0,5 ± 0,04
	Бедренная мышца	0,9 ± 0,03	1,1 ± 0,09*	1,1 ± 0,09*

Так, при приеме исследуемого растительного средства было достоверно установлено увеличение количества белка на 47 % в гомогенате скелетной мышцы, увеличение концентрации гликогена на 17 % в гомогенате печени (Таблица 3.4.2). Анаболическое действие исследуемого средства можно предположить за счет прямого геномного влияния на синтез белка в клетках, о чем свидетельствует достоверное увеличение уровня ДНК и РНК в гомогенате скелетных мышц белых крыс опытной группы на 44 % 22 % соответственно по сравнению с контрольной группой. При исследовании уровня глюкозы в сыворотке крови отмечалось её повышение на 23 % в опытной группе I по сравнению с контролем, что также способствует накоплению гликогена в печени, который является энергетическим субстратом в процессе синтеза белка в клетках (Таблица 3.4.2).

Таблица 3.4.2 – Влияние «Центафита» на показатели анаболизма неполовозрелых крыс

Показатели	Группы животных		
	Контрольная (H_2O), n=8	Опытная I («Центафит», 100 мг/кг), n=8	Опытная II (ЛЭЖ, 5 мл/кг), n=8
СТГ, нг/мл	0,8 ± 0,07	0,9 ± 0,07	0,9 ± 0,06
Белок в гомогенате скелетной мышцы, мг/г	60,1 ± 0,48	88,2 ± 0,69*	81,9 ± 0,79*
Гликоген в печени, мг/г	53,6 ± 1,20	62,6 ± 2,04*	59,5 ± 1,27*
ДНК в гомогенате скелетной мышцы, мг/г	1,8 ± 0,08	2,6 ± 0,14*	2,2 ± 0,18*
РНК в гомогенате скелетной мышцы, мг/г	20,8 ± 1,23	25,4 ± 1,07*	27,8 ± 1,36*
Глюкоза, ммоль/л	4,7 ± 0,39	5,8 ± 0,27*	5,4 ± 0,30
Холестерин, ммоль/л	2,1 ± 0,20	2,0 ± 0,17	1,8 ± 0,18
ЛПНП, ммоль/л	0,7 ± 0,03	0,7 ± 0,07	0,7 ± 0,05
ЛПВП, ммоль/л	1,1 ± 0,10	0,9 ± 0,04	0,9 ± 0,07
ТАГ, ммоль/л	0,6 ± 0,06	0,6 ± 0,05	0,6 ± 0,05

Исследуемое растительное средство не оказывает, достоверного влияния на уровень СТГ в сыворотке крови, вследствие чего не вызывает специфических гормональных эффектов, характерных для анаболических стероидов. В данном эксперименте также не было достоверных отличий в липидном обмене. Анаболическая активность «Центафита» была сравнима с референтным препаратом – ЛЭЖ (Таблица 3.4.2).

Таким образом, курсовое введение экстракта сухого «Центафит» в дозе 100 мг/кг оказывает анаболическое действие на прирост массы тела и относительную массу органов неполовозрелых крыс.

3.5 Исследование стресс-протективной активности экстракта сухого «Центафит»

3.5.1 Влияние на устойчивость к острому иммобилизационному стрессу

Исследования были проведены на крысах линии *Wistar* с исходной массой 190–210 г обоего пола. Острый иммобилизационный стресс воспроизводили путем фиксации животных в положении лежа на спине в течение 18 ч (Юматов, Скоцеляс, 1979). В данном эксперименте животные были распределены на четыре группы: 1-я группа – интактные животные (n=10); 2-я – контрольные животные, подвергнутые иммобилизационному стрессу (n=10); 3-я – животные опытной группы I, получавшие испытуемое средство + иммобилизационный стресс (n=10), 4-я – животные опытной группы II, получавшие препарат сравнения + иммобилизационный стресс (n=10). Животным опытной группы I вводили внутрижелудочно водный раствор «Центафита» в дозе 100 мг/кг, в объеме 10 мл/кг в течение 7 дней 1 раз в сутки и за 1 час до иммобилизации; животным опытной группы II – деалкоголизированный раствор ЛЭЖ в дозе 5 мл/кг, служивший препаратом сравнения, по вышеуказанной схеме. Крысам контрольной группы вводили дистиллированную воду в эквиобъемном количестве по аналогичной схеме.

На 7 день эксперимента животных контрольных и опытных групп подвергали иммобилизационному стрессу, после чего животных выводили из эксперимента путем мгновенной декапитации под легким эфирным наркозом. Стресс индуцированные изменения внутренних органов определяли выраженностью триады Селье: увеличением надпочечников, уменьшением иммунных органов – тимуса и селезенки; появлением язвенных повреждений в слизистой оболочке желудка. Интенсивность СРО, оценивали по концентрации МДА в сыворотке крови (Стальная, Гаришвили, 1977); состояние АОС по активности СОД в эритроцитах крови (Чевари и др., 1985), каталазы сыворотке крови (Королюк и др., 1988) и содержанию ВГ в крови (Akerboom, 1981; Cappiello et al., 2013).

В результате иммобилизационного стресса происходят характерные изменения внутренних органов: гипертрофия коры надпочечников; инволюция периферических и центральных органов иммунной системы – селезенки, тимуса; язвенные процессы в желудке. Профилактическое введение крысам опытной группы фитоэкстракта в дозе 100 мг/кг оказало выраженное стресс-протективное действие, о чем свидетельствует уменьшение выраженности «триады Селье», данные рисунка 3.5.1.1 и таблицы 3.5.1.1.

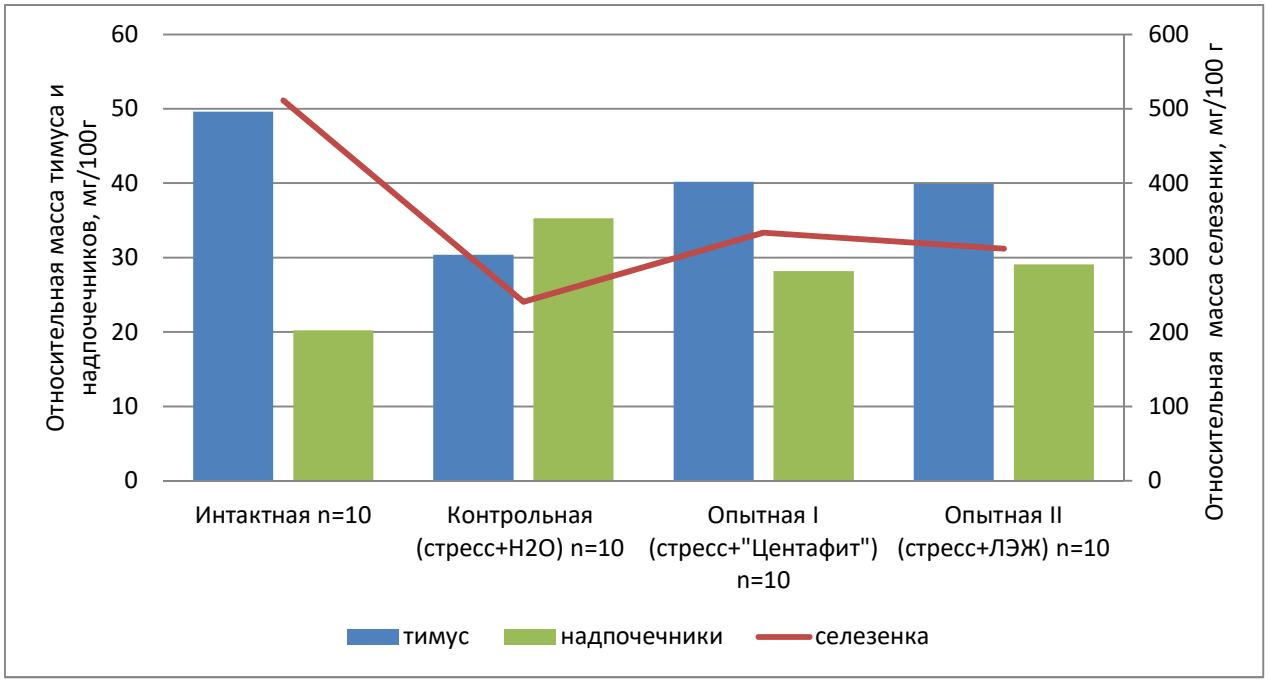

Рисунок 3.5.1.1 – Влияние «Центафита» на изменения массы органов белых крыс при иммобилизационном стрессе

Применение растительного средства «Центафит» приводит к уменьшению гипертрофии надпочечников на 20 %, к увеличению массы тимуса на 32 % и селезенки на 39 % по сравнению с аналогичными данными у крыс контрольной группы (Рисунок 3.5.1.1).

Таблица 3.5.1.1 – Влияние «Центафита» на изменения в слизистой оболочке желудка белых крыс при иммобилизационном стрессе

Показатели		Группы животных		
		Контрольная (стресс+H_2O), n=10	Опытная I (стресс+ «Центафит», 100 мг/кг), n=10	Опытная II (стресс+ ЛЭЖ, 5 мл/кг), n=10
Кровоизлияния	Среднее число деструкций на 1 животное	2,82	1,0	1,6
	% животных с повреждениями	80	30	40
	Индекс Паулса	2,25	0,30	0,64
Эрозии	Среднее число деструкций на 1 животное	1,82	0,48	0,52
	% животных с повреждениями	80	30	40
	Индекс Паулса	1,45	0,14	0,20
Язвы полосовидные	Среднее число деструкций на 1 животное	0,48	0	0
	% животных с повреждениями	30	0	0
	Индекс Паулса	0,14	0	0

При иммобилизационном стрессе происходят изменения в слизистой оболочке желудка в виде отека, гиперемии и деструктивных повреждений. Введение испытуемого средства предупреждало развитие выраженных изменений в слизистой оболочке желудка белых крыс: эрозии встречались

лишь в 30 % случаев, в отличие от контроля (80 %); индекс Паулса для эрозий был в 10 раз меньше, чем в контроле. Кровоизлияния в группе животных, получавших «Центафит» наблюдались у 30% животных против 80 % в контроле; индекс Паулса был в 7,5 раз меньше показателя контрольной группы животных. У крыс, получавших фитоэкстракт, не наблюдалось образования полосовидных язв, в отличие от контрольной группы, где в 30 % случаев отмечалось появление глубокого поражения слизистой – полосовидные язвы. Показатели у животных получавших препарат сравнения были ниже группы животных, принимавших «Центафит» (Таблица 3.5.1.1).

В результате иммобилизации продолжительностью 18 часов усиливаются процессы свободнорадикального окисления биомакромолекул, вследствие чего у животных контрольной группы происходит повышение концентрации МДА в 1,8 раза и значительное снижение активности СОД в эритроцитах и содержание ВГ в крови в 5,2 и 3,8 раза соответственно, активности каталазы в сыворотке крови в 1,8 раза по сравнению с данными в интактной группе.

Введение растительного средства «Центафит» животным в опытной группе снижает содержание МДА в сыворотке крови на 36 %, повышает активность СОД в эритроцитах в 3,2 раза, содержание ВГ в крови в 3 раза и активность каталазы в сыворотке крови в 1,3 раза по сравнению с аналогичными данными в контрольной группе животных. У крыс, принимавших препарат сравнения ЛЭЖ показатели антиоксидантной защиты, были ниже по сравнению с группой животных, получавших «Центафит» (Таблица 3.5.1.2).

Таблица 3.5.1.2 – Влияние «Центафита» на интенсивность процессов свободнорадикального окисления и состояние антиоксидантной системы организма белых крыс при иммобилизационном стрессе

Показатели	Группы животных			
	Интактная (H_2O), n=10	Контрольная (стресс+H_2O), n=10	Опытная I (стресс+ «Центафит», 100 мг/кг), n=10	Опытная II (стресс+ ЛЭЖ, 5 мл/кг), n=10
МДА в сыворотке крови, мкмоль/л	15,9 ± 1,93	29,2 ± 2,50	18,8 ± 1,67*	20,6 ± 1,32*
Каталаза в сыворотке крови, мкат/л	15,6 ± 1,21	8,7 ± 0,38	11,2 ± 0,58*	10,1 ± 0,12*
СОД в эритроцитах, усл.ед.	2,6 ± 0,10	0,5 ± 0,05	1,6 ± 0,11*	0,9 ± 0,12*
ВГ в крови, мкмоль/л	836,2 ± 45,04	217,9 ± 21,22	630,9 ± 56,46*	591,6±51,36*

Таким образом, курсовое введение животным испытуемого средства в дозе 100 мг/кг на фоне 18-часового иммобилизационного стресса оказывает выраженное стресс-протективное действие, уменьшая выраженность изменений весовых показателей органов-мишеней при стрессе, связанных с его ингибирующим влиянием на процессы свободнорадикального окисления биомакромолекул и активацией системы антиоксидантной защиты организма.

3.5.2 Влияние на усточивость к хроническому эмоциональному стрессу

Исследования были проведены на крысах линии *Wistar* с исходной массой 170-190 г обоего пола. Животные были распределены на четыре группы: 1-я группа – интактные животные (n=10); 2-я – животные контрольной группы, подвергнутые хроническому стрессу (n=10); 3-я – животные опытной группы I, получавшие «Центафит» + хронический стресс (n=10), 4-я – животные опытной группы II, получавшие препарат

сравнения + хронический стресс (n=10). Животным опытной группы I вводили внутрижелудочно испытуемое средство в дозе 100 мг/кг, в объеме 10 мл/кг однократно со второй недели эксперимента в течение 3 недель; животным опытной группы II – деалкоголизированный раствор ЛЭЖ в дозе 5 мл/кг, по вышеуказанной схеме. Крысам контрольной группы вводили дистиллированную воду в эквиобъемном количестве по аналогичной схеме.

В работе использовали модель хронического непредсказуемого стресса в модификации (Papp et al., 1991). Крыс подвергали разным видам стрессовых воздействий однократно в сутки в утренние часы (с 8 до 10 часов) или вечером (с 16 часов). Для оценки стрессовых воздействий проводили тестирование крыс с помощью тестов: «приподнятый крестообразный лабиринт», «открытое поле», «принудительное плавание», «подвешивания за хвост». После окончания тестирования крыс подвергали декапитации, извлекали надпочечники, тимус, селезенку и определяли их относительную массу. Для оценки влияния испытуемого средства на уровень стрессовых гормонов в сыворотке крови определяли содержание АКТГ, кортикостерона, адреналина, норадреналина. Интенсивность свободнорадикального окисления и состояние антиоксидантной системы оценивали по содержанию МДА и активности каталазы в сыворотке крови, активности СОД в эритроцитах и содержанию ВГ в крови.

Результаты исследования животных в ПКЛ показали, что у животных контрольной группы отмечается высокий уровень тревожности. Так, время пребывания в открытых рукавах ПКЛ и количество заходов в них у контрольной группы животных было значительно меньше по сравнению с таковыми показателями интактных крыс. Введение испытуемого средства крысам оказывало противотревожное действие: время пребывания в открытых рукавах ПКЛ и количество заходов в них было в среднм в 5,0 раз больше контрольных значений. Также достоверно отмечалось уменьшение количества актов абортивного груминга и дефекаций у животных I опытной группы (Таблица 3.5.2.1).

Таблица 3.5.2.1 – Влияние «Центафита» на поведение белых крыс в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт» при хроническом стрессе

Показатели		Группы животных			
		Интактная n=10	Контрольная (стресс+H_2O), n=10	Опытная I (стресс+ «Центафит», 100 мг/кг), n=10	Опытная II (стресс+ ЛЭЖ, 5 мл/кг), n=10
Количество заходов	Открытый рукав	1,9 ± 0,21	0,2 ± 0,12	1,0 ± 0,24*	0,5 ± 0,11*
	Закрытый рукав	2,8 ± 0,32	0,7 ± 0,21	2,0 ± 0,23*	2,2 ± 0,41*
Время нахождения, с	Открытый рукав	70,3 ± 5,60	13,2 ±2,16	63,3 ±7,47*	22,8 ± 2,50*
	Закрытый рукав	216,5 ± 30,01	280,5 ± 5,64	226,0 ± 21,52*	259,8 ± 6,01*
	Центральная площадка	13,6 ± 1,50	6,3 ± 0,74	10,7 ± 0,30*	17,4 ± 2,16*
Вертикальная активность		7,3 ± 0,21	2,6 ± 0,44	6,7 ± 0,52*	3,5 ± 1,10
Свешивание		2,6±0,11	0,6±0,12	2,4±0,61*	1,7±0,53
Груминг		0,8 ± 0,10	1,9 ± 0,21	1,0 ± 0,30*	0,9 ± 0,20*
Дефекации		0,1 ± 0,10	2,1 ± 0,22	0,4 ± 0,23*	0,6 ± 0,12*

Уровень двигательной и поисковой активности у крыс контрольной группы, а также количество болюсов и актов абортивного груминга в тесте «открытое поле» заметно отличались от показателей интактных животных (Рисунок 3.5.2.1).

Введение экстракта сухого «Центафит» крысам опытной группы в 1,5 раза повысило уровень двигательной и поисково-исследовательской активности, а количество болюсов и актов короткого груминга было меньше по сравнению с контролем ($p < 0,05$). При этом показатели опытной группы I были сопоставимы с таковыми показателями опытной группы II. Результаты исследования представлены на рисунке 3.5.2.1.

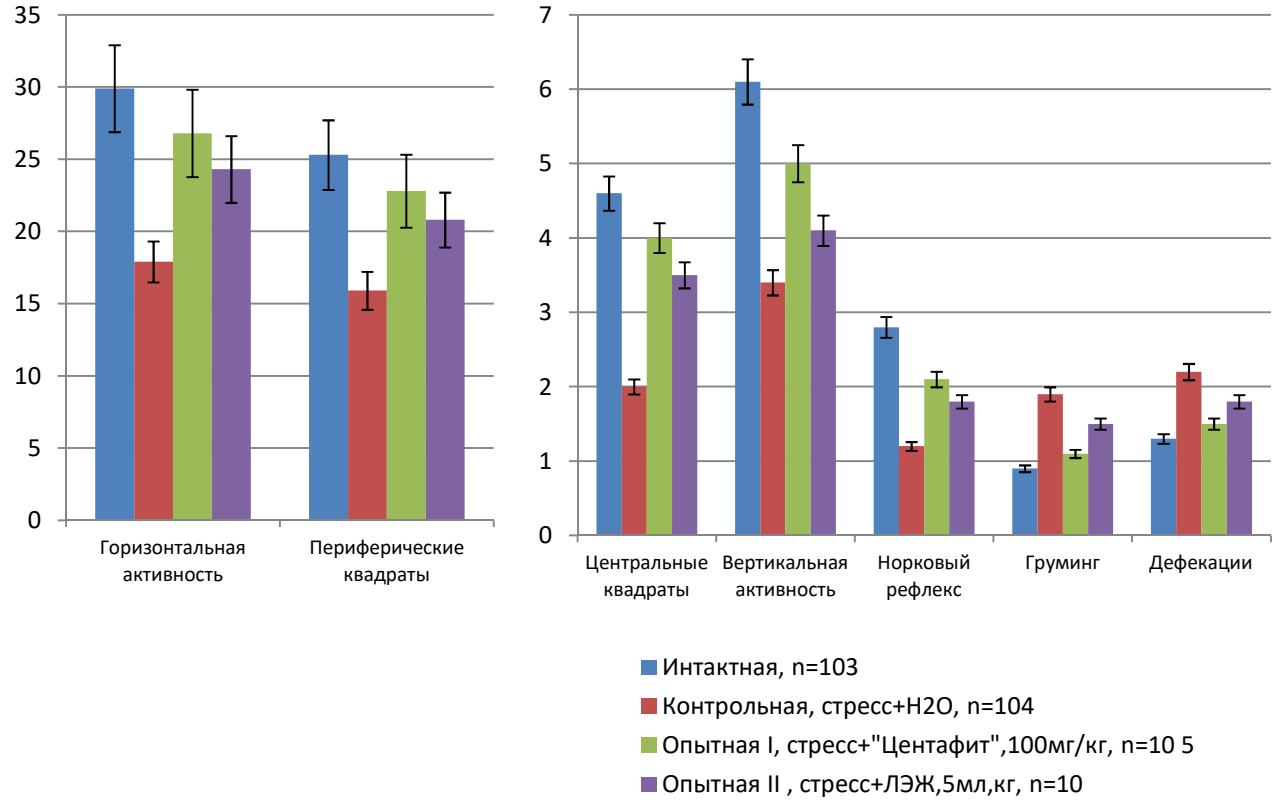

Рисунок 3.5.2.1 – Влияние «Центафита» на поведение белых крыс в тесте «открытое поле» при хроническом стрессе

Для оценки антидепрессивного действия «Центафита» при хроническом стрессе проводили тест «принудительного плавания» и модель «подвешивание крыс за хвост» (Porsolt et al.,1978; Воронина, 2017 в). При проведении тестов оценивали время иммобильности, когда животное от активных действий переходит к неподвижности к так называемому «состоянию отчаяния и безысходности». В модели подвешивания крыс за хвост дополнительно оценивали время до первого эпизода неподвижности (латентное время иммобильности). В данных экспериментах отмечали увеличение времени иммобильности у крыс контрольной группы по сравнению с показателями интактных крыс, что свидетельствовало о развитии у них депрессивного состояния. Введение испытуемого средства и препарата сравнения крысам в тесте «принудительного плавания» уменьшает период иммобильности в 3,0 и 2,5 раза соответственно, по сравнению с контролем (Рисунок 3.5.2.2).

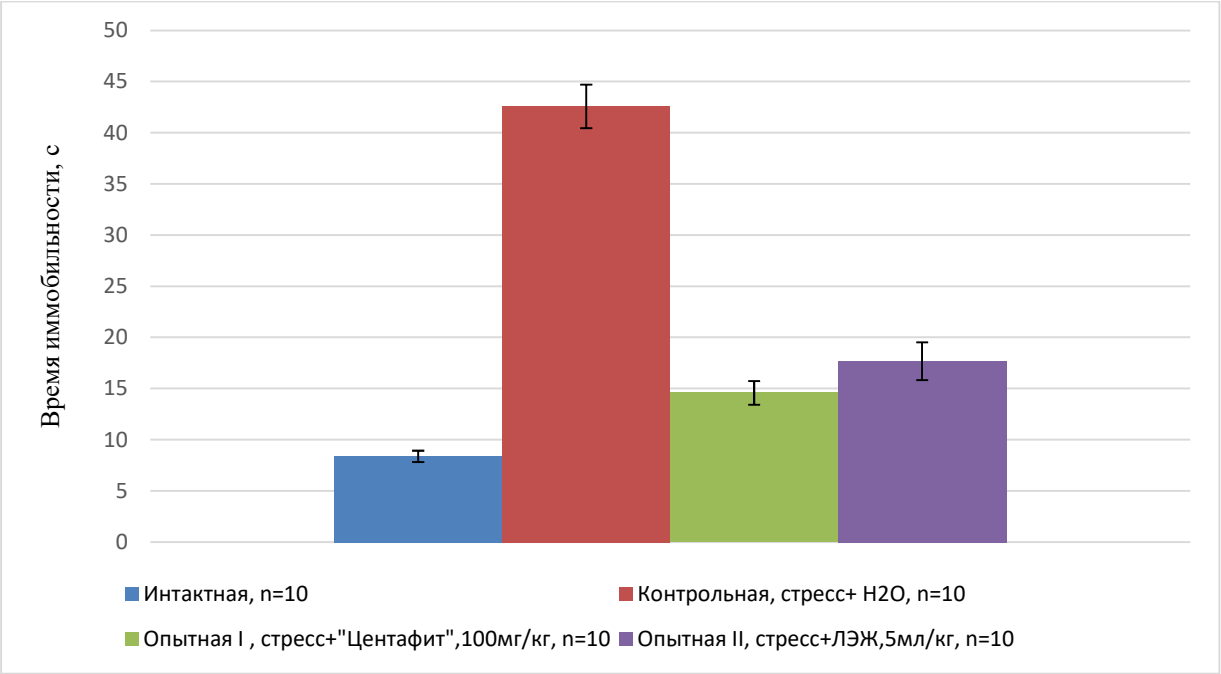

Рисунок 3.5.2.2 – Влияние «Центафита» на время иммобильности белых крыс в тесте «принудительное плавание» при хроническом стрессе

Применение исследуемого средства в модели «подвешивания крыс за хвост» также уменьшает время иммобильности в опытных группах в среднем в 2,0 раза по сравнению с контрольной группой животных; и увеличивает латентное время иммобильности в опытных группах в среднем в 1,5 раза по сравнению с контрольной группой животных (Рисунок 3.5.2.3)

Исследование влияния растительного средства «Центафит» на течение хронического стресса выявило, что его курсовое введение животным в течение 3 недель в дозе 100 мг/кг оказывает выраженное стресс-протективное действие, которое проявляется в уменьшении активации центральных стресс-реализующих систем.

Так, курсовое введение испытуемого средства снижает активность гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой и симпатоадреналовой систем. Об этом свидетельствует уменьшение концентрации в плазме крови опытной группы АКТГ и кортикостерона в 1,5 и 1,4 раза соответственно, а также снижение содержания уровня адреналина и норадреналина в 1,8 и 1,2 раза соответственно по сравнению с данными животных контрольной группы (Рисунок 3.5.2.4).

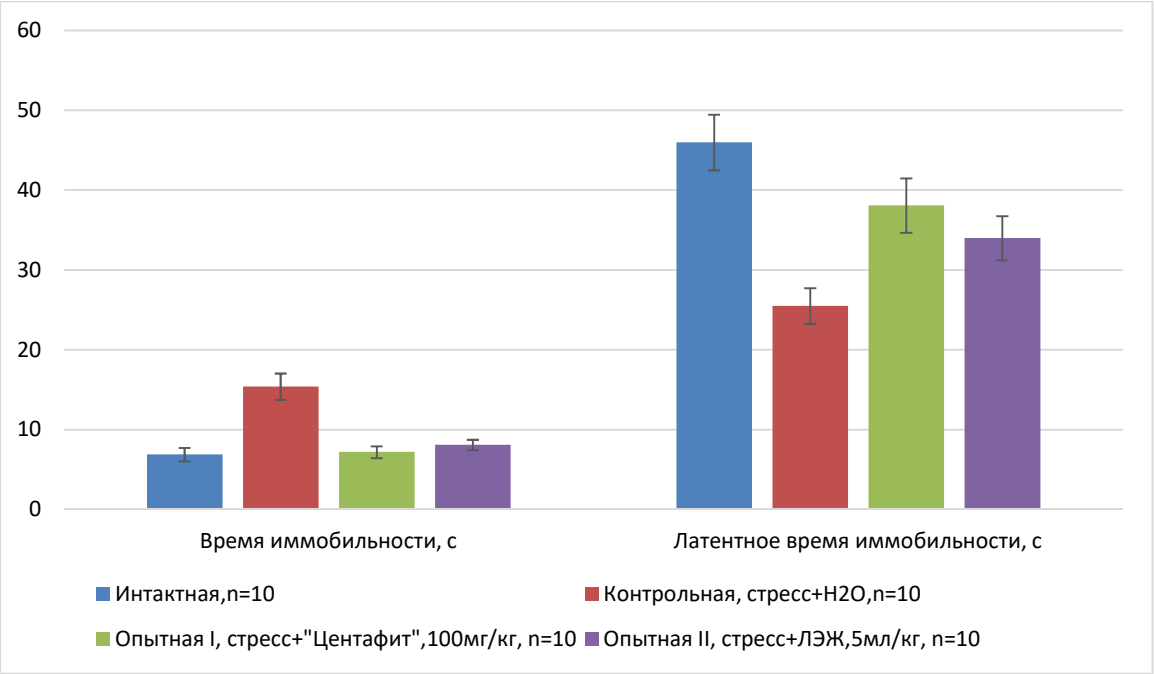

Рисунок 3.5.2.3 – Влияние «Центафита» на поведение белых крыс в модели «подвешивание за хвост» при хроническом стрессе

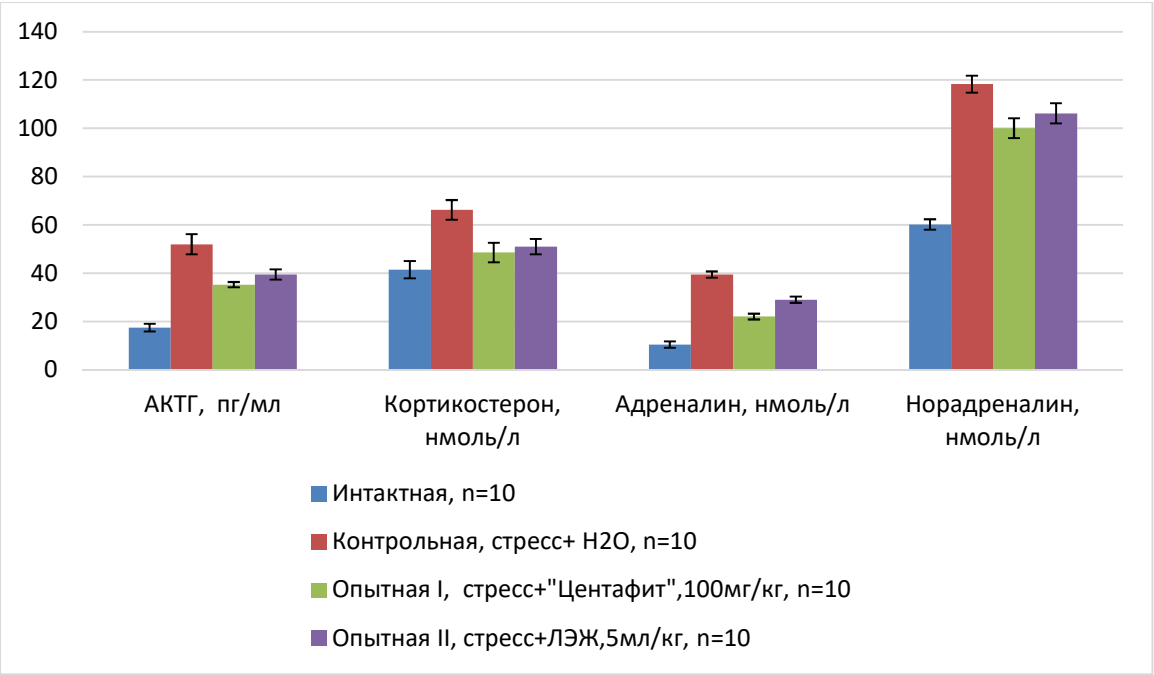

Рисунок 3.5.2.4 – Влияние «Центафита» на содержание стрессорных гормонов в плазме крови белых крыс при хроническом стрессе

Также при хроническом стрессе у контрольной группы животных отмечали увеличение в 1,5 раза массы надпочечников, уменьшение в 1,5 и 1,1 раза соответственно масс тимуса и селезенки по сравнению с интактными крысами. У животных опытных групп эти показатели значительно отличались от контроля и мало отличались от таковых показателей интактных животных. Применение растительного средства «Центафит» приводит к уменьшению гипертрофии надпочечников на 26,5 %, к увеличению массы тимуса на 30 % и селезенки на 12 % по сравнению с аналогичными данными у крыс контрольной группы (Рисунок 3.5.2.5).

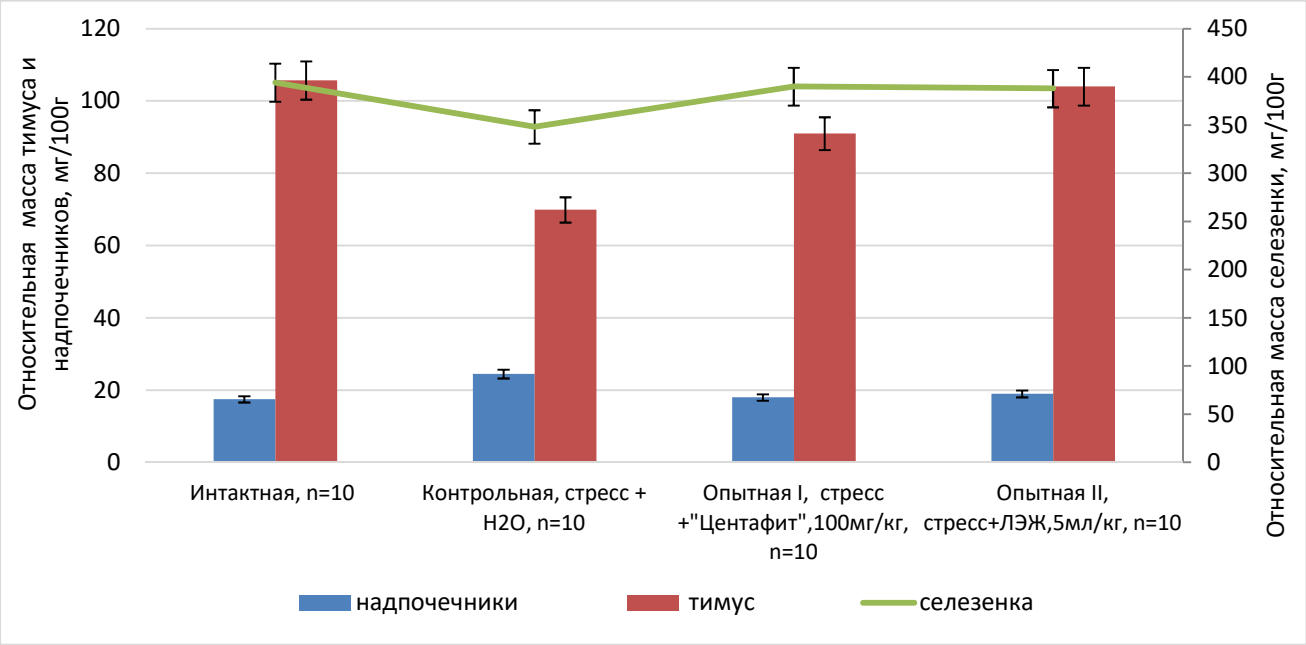

Рисунок 3.5.2.5 – Влияние «Центафита» на относительную массу органов белых крыс при хроническом стрессе

Курсовое введение комплексного растительного средства в дозе 100мг/кг в опытной группе приводит к снижению концентрацию МДА в 1,4 раза; повышению активности каталазы, СОД и содержанию ВГ в среднем в 1,6 раза, по сравнению с аналогичными показателями крыс контрольной группы. При этом антиоксидантная активность опытного средства превосходила препарат сравнения (Рисунок 3.5.2.6).

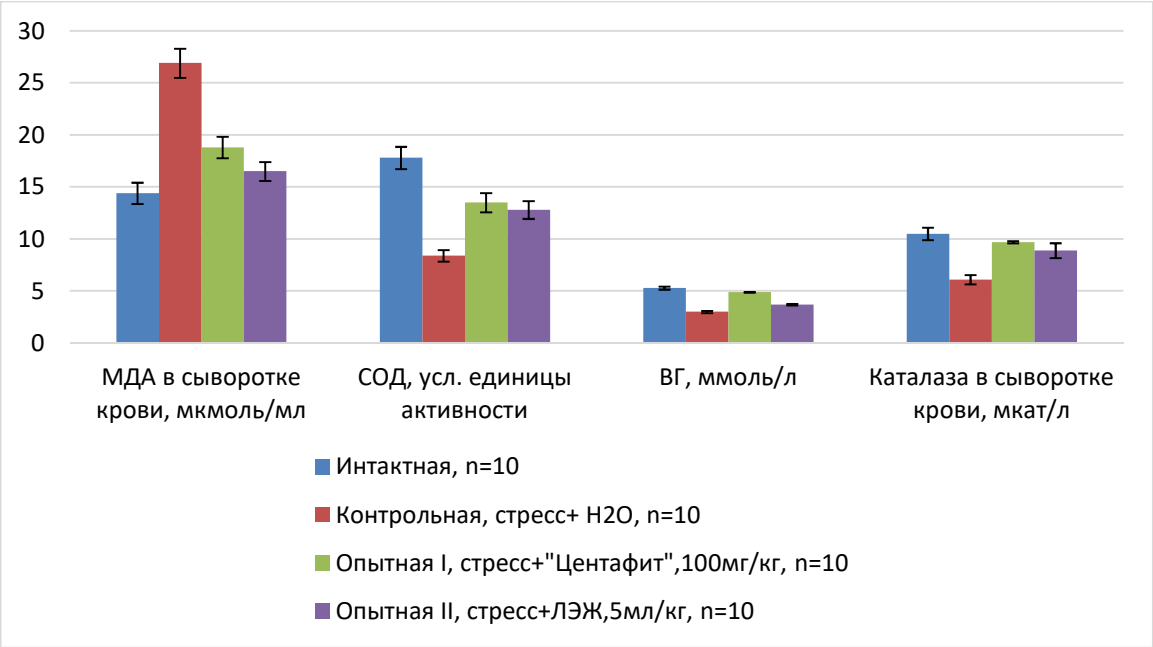

Рисунок 3.5.2.6 – Влияние «Центафита» на интенсивность процессов свободнорадикального окисления и состояние антиоксидантной системы организма белых крыс при хроническом стрессе

Таким образам, в результате исследований установлено, что хронический стресс у крыс контрольной группы приводит к стрессовым реакциям, формированию устойчивых депрессивных состояний и изменению относительной массы органов – тимуса, надпочечников и селезенки. Курсовое введение испытуемого средства препятствует развитию у крыс стрессовых тревожно-депрессивных состояний, изменениям весовых показателей органов-мишеней при стрессе. Центральные механизмы стресс-протективного действия экстракта сухого «Центафит» при хроническом стрессе связаны с ограничением гиперактивации центральных стресс-реализующих систем: симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-адреналовой. Наряду с этим продуктивная работа АОС организма в условиях хронического стресса способствует снижению процессов СРО биомакромолекул и является эндогенной стресс-лимитирующей системой.

ГЛАВА 4 ИССЛЕДОВАНИЕ ВЛИЯНИЯ ЭКСТРАКТА СУХОГО «ЦЕНТАФИТ» НА ФУНКЦИОНАЛЬНОЕ СОСТОЯНИЕ ЦЕНТРАЛЬНОЙ НЕРВНОЙ СИСТЕМЫ

4.1 Влияние на поведенческую активность белых крыс в тесте «открытое поле»

Исследования проведены на белых крысах линии *Wistar* массой 180–200 г обоего пола. Животные были распределены на пять групп:1-я – животные контрольной группы (n=10); 2-я – животные опытной группы I получали исследуемое средство в дозе 50 мг/кг (n=10); 3-я – опытная группа II получали исследуемое средство в дозе 100 мг/кг (n=10); 4-я – опытная группа III получали исследуемое средство в дозе 150 мг/кг (n=10); 5-я – животные опытной группы IV, получали препарат сравнения ЛЭЖ (n=10). Животные I-III опытных групп получали исследуемое средство в указанных дозах 1 раз в сутки 7 дней за 30 минут до приема пищи в объеме 10 мл/кг; IV опытной группы – деалкоголизированный раствор ЛЭЖ в дозе 5 мл/кг, по вышеуказанной схеме. Контрольной группе животных вводили дистиллированную воду в эквиобъемном количестве по аналогичной схеме.

Для исследования ориентировочно-исследовательской и двигательной активностей, а также оценки тревожного состояния у животных использовали тест «открытое поле» (Воронина и др., 2012 а). Исследования производили в утреннее время, последнее кормление проводили за 1 час до эксперимента. Регистрировали число пересеченных периферических и центральных квадратов (горизонтальная активность), число подъемов на задние лапки (вертикальная активность), число заглядываний в норки (норковый рефлекс), число дефекаций и актов груминга.

Установлено, что у крыс опытных групп, находящихся в незнакомой обстановке, повышается двигательная и ориентировочно-исследовательская активность, уменьшаются вегетативные проявления тревоги по сравнению с показателями крыс контрольной группы (Рисунок 4.1.1).

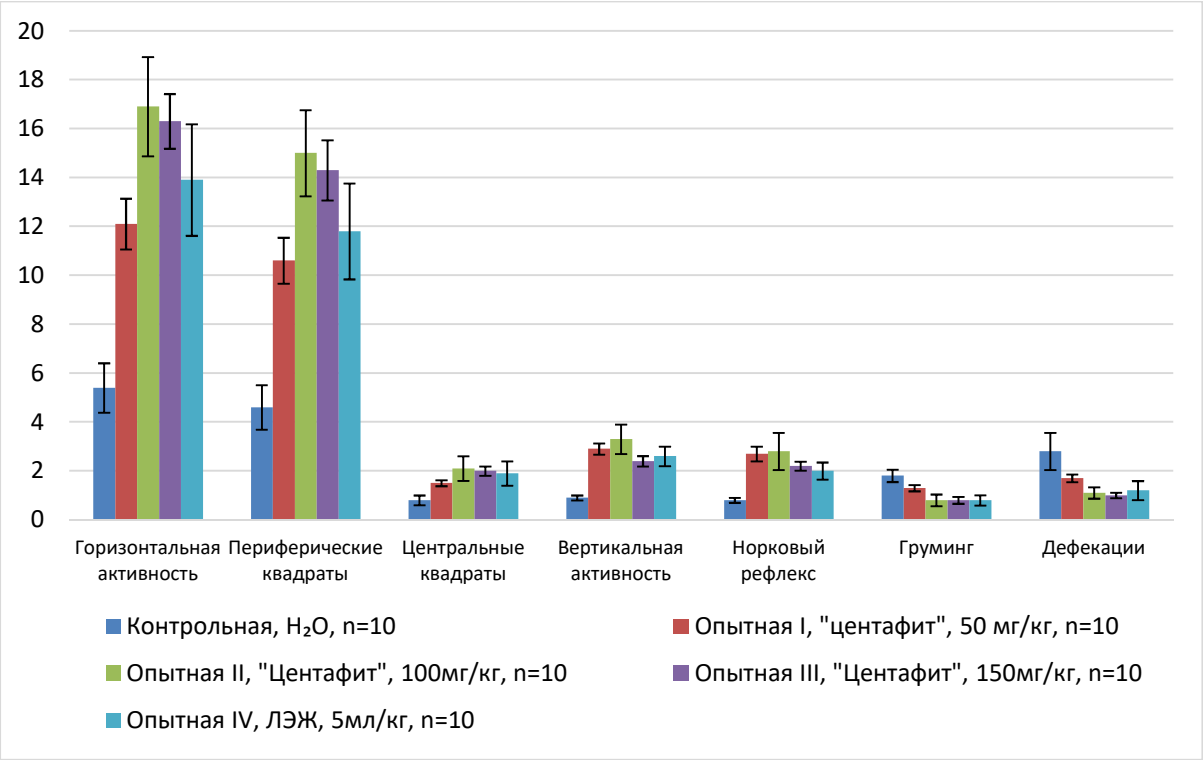

Рисунок 4.1.1 – Влияние «Центафита» на поведение белых крыс в тесте «открытое поле»

Так, введение крысам «Центафита» в дозе 50 мг/кг повышает горизонтальную активность в 2,0 раза и в дозах 100–150 мг/кг в среднем в 3 раза, в основном за счет движения животных по периферическим квадратам. Ориентировочно-исследовательская активность в виде вертикальных стоек и обследования животными норок превалировала у животных опытной группы принимавшей растительное средство в дозе 100 мг/кг и была выше в 3,5 раза по сравнению с таковой животных контрольной группы. Также достоверно отмечалось снижение вегетативных проявлений тревоги во II и III опытных группах. Показатели двигательной и исследовательской активности в группе препарата сравнения были ниже, чем во II опытной группе.

Таким образом, наиболее лучшие данные поведенческой активности показали животные, принимавшие растительное средство в дозе 100 мг/кг.

4.2 Влияние на поведенческую активность белых крыс в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт»

Исследования проведены на белых крысах линии *Wistar* массой 180–200 г обоего пола. Животные I-III опытных групп получали экстракт сухой «Центафит» соответственно в дозах 50, 100 и 150 мг/кг 1 раз в сутки 7 дней за 30 минут до приема пищи в объеме 10 мл/кг. Животные IV опытной группы получали деалкоголизированный раствор ЛЭЖ в дозе 5 мл/кг, по вышеуказанной схеме. Контрольной группе животных вводили дистиллированную воду в эквиобъемном количестве по аналогичной схеме.

Влияние на поведенческую активность в тесте ПКЛ оценивали с помощью следующих параметров: латентный период от начала эксперимента до момента ухода с центральной площадки, количество посещений и время пребывания в открытых и закрытых рукавах лабиринта, количество свешиваний через край открытых рукавов, количество вертикальных стоек. Эмоциональную активность оценивали по количеству мочеиспусканий и болюсов. Анализ поведения животных в ПКЛ установил, что крысы контрольной группы значительную часть времени проводят в закрытых рукавах лабиринта, чем в открытых.

Введение животным «Центафита» в дозах 100 и 150 мг/кг снижало чувство страха открытых пространств и повышало число заходов в открытые рукава в 3,3 раза и время, проведенное в них – в 2,4 и время нахождения на центральной площадке – в 6,0 раз по сравнению с таковыми показателями животных контрольной группы (Таблица 4.2.1).

Таблица 4.2.1 – Влияние «Центафита» на поведение белых крыс в тесте «приподнятый крестообразный лабиринт»

Показатели		Группы животных				
		Контрольная (H_2O), n=10	Опытная I («Центафит» 50 мг/кг), n=10	ОпытнаяII («Центафит» 100 мг/кг), n=10	Опытная III («Центафит» 150 мг/кг), n=10	Опытная IV (ЛЭЖ, 5 мл/кг), n=10
Количество заходов	Открытый рукав	0,6 ± 0,20	1,0 ± 0,12	2,0 ± 0,20*	2,1 ± 0,19*	1,8 ± 0,46*
	Закрытый рукав	1,0 ± 0,14	1,2 ± 0,11	2,1 ± 0,50*	1,9 ± 0,18*	2,0 ± 0,26*
Время пребывания, сек.	Открытый рукав	14,8 ± 1,91	16,8 ± 0,13	36,1 ± 4,60*	35,8 ± 2,98*	28,2 ± 3,01*
	Закрытый рукав	279,8±9,91	274,6 ± 15,16	229,5 ± 19,80	232,8 ± 20,91	257,7 ± 28,80
	Центр. площадка	5,4 ± 1,14	8,6 ± 0,79	34,4 ± 7,91*	31,4 ± 3,21*	14,1 ± 1,78*
Вертикальная активность		0,8 ± 0,21	1,1 ± 0,12	2,6 ± 0,20*	2,5 ± 0,23*	2,5 ± 0,60*
Число свешиваний		0,6 ± 0,11	1,3 ± 0,14	1,9 ± 0,20*	1,8 ± 0,11*	1,7 ± 0,50*
Дефекации		1,5 ± 0,13	0,6 ± 0,2*	0,2 ± 0,11*	0,4 ± 0,17*	0,8 ± 0,12*

У белых крыс, получавших «Центафит» в дозах 100 и 150 мг/кг, отмечалось также увеличение общей двигательной активности по количеству заходов в закрытые рукава ПКЛ в среднем в 2,0 раза и ориентировочно-исследовательской активности, как за счет увеличения вертикальных стоек в среднем в 3,2 раза, так и свешиваний в среднем в 3,0 раза соответсвенно по сравнению с данными крыс контрольной группы. Фитоэкстракт в дозе 50 мг/кг не оказывал достоверного влияния на поведение белых крыс в тесте ПКЛ. Показатели животных, получавших препарат сравнения, были ниже данных крыс, принимавших «Центафит» в дозах 100 и 150 мг/кг. Увеличение двигательной и ориентировочно-исследовательской активности, понижение чувства страха и тревоги у животных получавших «Центафит», можно объяснить снижением у них уровня тревожности. Так, у животных опытных

групп количество болюсов было ниже по сравнению с белыми крысами контрольной группы – в среднем в 3,5 раза (Таблица 4.2.1).

Таким образом, курсовое введение экстракта сухого «Центафит» в дозах 100 и 150 мг/кг снижает уровень тревожности белых крыс, в результате чего повышается число заходов в открытые рукава, время, проведенное в них и ориентировочно-исследовательская активность в опытных группах в сравнении с контрольной группой животных.

4.3 Влияние на поведенческую активность белых крыс в тесте «светлая/темная камера»

Методика «светлой/темной» камеры основана на естественном стремлении грызунов избегать ярко освещенных мест (Воронина и др., 2012 а). Исследования проведены на белых крысах линии *Wistar* массой 180–200 г обоего пола. Животные I-III опытных групп получали исследуемое средство в дозах 50, 100 и 150 мг/кг 1 раз в сутки 7 дней за 30 минут до приема пищи в объеме 10 мл/кг. Животные IV опытной группы получали деалкоголизированный раствор левзеи экстракта жидкого в дозе 5 мл/кг, по вышеуказанной схеме. Животным контрольной группы вводили дистиллированную воду в эквиобъемном количестве по аналогичной схеме.

В данном эксперименте животных помещали в ярко освещенный отсек двухкамерной установки и в течение 5 минут регистрировали число переходов между светлым и темным отсеком, а также длительность пребывания в них. Результаты тестирования животных в «светлой/темной» камере показали, что контрольные животные предпочитают большую часть времени проводить в темном отсеке установки. Курсовое введение животным исследуемого средства увеличивало количество переходов между камерами и время пребывания животных в светлом отсеке установки по сравнению с таковыми показателями у животных контрольной группы.

Наиболее лучшие показатели были у животных, принимавших растительное средство в дозе 100 мг/кг; количество переходов и время

пребывания в светлом отсеке были в 1,5 раза выше, чем в контроле. «Центафит» в дозе 100 мг/кг проявляет более выраженный эффект в данном тесте, чем препарат сравнения (Таблица 4.3.1).

Таблица 4.3.1. Влияние «Центафита» на поведение белых крыс в тесте «светлая/темная камера»

Группы животных	Количество переходов	Время пребывания в камере, сек.	
		светлая	темная
Контрольная (H_2O), n=10	3,4 ± 0,29	40,6 ± 4,55	260,4 ± 6,70
Опытная I («Центафит», 50 мг/кг), n=10	4,8 ± 0,44*	60,4 ± 6,01*	240,6 ± 6,16
Опытная II («Центафит», 100 мг/кг), n=10	5,6 ± 0,49*	61,2 ± 5,83*	239,8 ± 4,98
Опытная III («Центафит», 150 мг/кг), n=10	4,8 ± 0,39*	52,8 ± 5,16	248,2 ± 7,02
Опытная IV (ЛЭЖ, 5 мл/кг), n=10	5,0 ± 0,45*	60,9 ± 5,68*	239,1 ± 8,97

Таким образом, курсовое введение экстракта сухого «Центафит» в дозе 100 мг/кг снижает естественное стремление грызунов избегать ярко освещенных мест, в результате чего повышается количество переходов и время пребывания в светлом отсеке в опытных группах по сравнению с контрольной группой животных.

4.4 Влияние на выработку условной реакции пассивного избегания у белых крыс

Исследования проведены на белых крысах линии *Wistar* массой 180–200 г обоего пола. Животные I-III опытных групп получали «Центафит» в дозах 50, 100 и 150 мг/кг 1 раз в сутки 7 дней за 30 минут до приема пищи в

объеме 10 мл/кг. Животные IV опытной группы получали деалкоголизированный раствор ЛЭЖ в дозе 5 мл/кг, по вышеуказанной схеме. Животным контрольной группы вводили дистиллированную воду в эквиобъемном количестве по аналогичной схеме (Таблица 4.4.1).

Таблица 4.4.1 – Влияние «Центафита» на процессы обучения и памяти у белых крыс в тесте условной реакции пассивного избегания

Группы	Сроки наблюдения		
	1 час	24 часа	3 суток
Латентный период, с			
Контрольная (H_2O), n=10	112,1 ± 10,80	94,6 ± 10,75	82,7 ± 8,63
Опытная I («Центафит», 50 мг/кг), n=10	158,3 ± 13,98*	99,8 ± 8,89	89,9 ± 9,15
Опытная II («Центафит», 100 мг/кг), n=10	161,6 ± 16,51*	136,6 ± 13,48*	116,7 ± 11,92*
Опытная III («Центафит», 150 мг/кг), n=10	165,7 ± 15,93*	152,8 ± 16,21*	130,1 ± 14,12*
Опытная IV (ЛЭЖ, 5 мл/кг), (n=10)	160,2 ± 15,76*	151,5 ± 14,87*	125,5 ± 11,87*
Количество животных с сохранившимся рефлексом %			
Контрольная (H_2O), n=10	40	20	10
Опытная I («Центафит», 50 мг/кг), n=10	60	40	20
Опытная II («Центафит», 100 мг/кг), n=10	70	50	30
Опытная III («Центафит», 150 мг/кг), n=10	80	60	60
Опытная IV (ЛЭЖ, 5 мл/кг), n=10	80	60	40

Для оценки когнитивных функций у животных использовали методику условной реакции пассивного избегания. Данная методика позволяет быстро

выработать условный рефлекс у животных и оценить влияние испытуемого средства на скорость выработки и угасание условной реакции пассивного избегания (Островская и др., 2012). Оценкой выработки условной реакции был латентный период перехода в темный отсек и количество животных с сохранившимся рефлексом через определенный промежуток времени после обучения (1 час, 24 часа, 3 суток).

Установлено, что профилактическое введение животным «Центафита» улучшает выработку условного рефлекса пассивного избегания и сохранение памятного следа в отдаленные сроки после обучения. Так, в I-III опытных группах через 1 час после исследования латентный период захода в темный отсек был в среднем на 1,5 раза выше, чем в контрольной группе животных, а через 24 часа и на 3-и сутки латентный период был достоверно выше у животных получавших «Центафит» в дозах 100 и 150 мг/кг. Так на 3 сутки латентный период был выше в 1,4 раза у животных получавших «Центафит» в дозе 100 мг/кг и в 1,6 раза – в дозе 150 мг/кг. В III опытной группе у животных получавших «Центафит» количество животных через 1 час после обучения с сохранившимся рефлексом было больше в 2 раза, через 24 часа – в 3 раза больше чем в контрольной группе. При исследовании сохранности условного рефлекса на 3 сутки было установлено, что рефлекс сохранился у 60 % крыс в данной опытной группе, и у 30 % животных в дозе 100 мг/кг, при этом в контрольной группе – лишь в 10 % случаев. Препарат сравнения оказывал менее выраженное влияние на процессы обучения и памяти, чем «Центафит» в дозе 150 мг/кг (Таблица 4.4.1).

Таким образом, курсовое введение экстракта сухого «Центафит» стимулирует у белых крыс выработку условного рефлекса пассивного избегания и обеспечивает более прочную сохранность памятного следа. Наиболее выраженный эффект наблюдался при использовании экстракта в дозе 150 мг/кг.

4.5 Влияние на поведение белых крыс в тесте «конфликтной ситуации по *Vogel*»

Исследования проведены на белых крысах линии *Wistar* массой 180–200 г обоего пола. Животные I-III опытных групп получали «Центафит» в дозах 50, 100 и 150 мг/кг 1 раз в сутки в течение 7 дней за 30 минут до приема пищи в объеме 10 мл/кг. Животные IV опытной группы получали деалкоголизированный раствор ЛЭЖ в дозе 5 мл/кг, по вышеуказанной схеме. Животным контрольной группы вводили дистиллированную воду в эквиобъемном количестве по аналогичной схеме.

Конфликтную ситуацию по *Vogel* создавали путем возникновения у животных чувства страха, за счет воздействия электрического тока на безусловный питьевой рефлекс при употреблении крысами воды из чашки. Об анксиолитическом влиянии исследуемого средства судили по количеству наказуемых взятий воды (Воронина и др., 2012 а). Результаты полученных исследований представлены на рисунке 4.5.1.

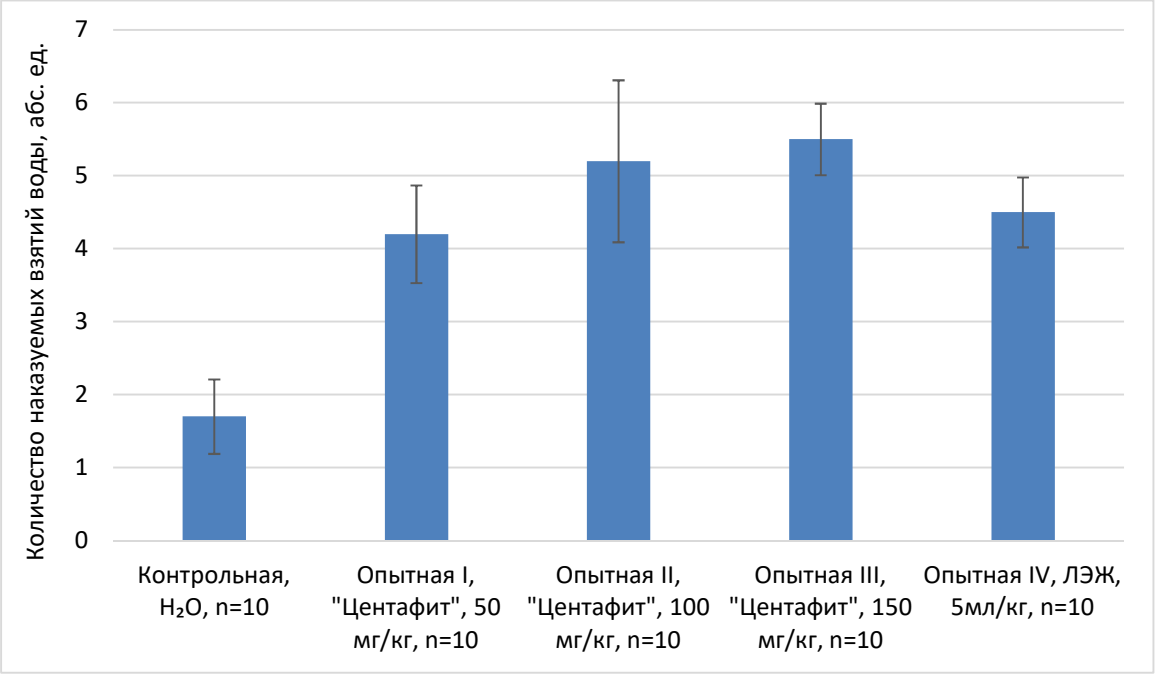

Рисунок 4.5.1 – Влияние «Центафита» на поведение белых крыс в тесте «конфликтной ситуации по *Vogel*»

Курсовое введение животным «Центафита» и ЛЭЖ устраняло чувство страха и тревоги, повышая количество наказуемых взятий воды.

Так, введение растительного средства в дозе 50 мг/кг увеличивало количество наказуемых взятий воды в 2,5 раза, в дозах 100 и 150 мг/кг в среднем в 3 раза по сравнению с показателем контрольной группы. Действие препарата сравнения было ниже, чем у «Центафита» в дозах 100 и 150 мг/кг.

Таким образом, курсовое введение экстракта сухого «Центафит» оказывает выраженное анксиолитическое действие в условиях наказуемого взятия воды, достоверно увеличивая их количество в тесте «конфликтной ситуации по *Vogel»*.

4.6 Изучение влияния на ГАМК-ергическую систему

Исследования проведены на белых крысах линии *Wistar*, массой 180–200г обоего пола. Животные были распределены на пять групп, по 10 крыс. Исследуемое средство в дозе 100 мг/кг в объёме 10 мл/кг вводили животным I и II опытных групп в течение 7 дней до проведения эксперимента, последнее введение осуществляли за 1 час до тестирования животных. Животным I и II контрольных групп и интактным животным вводили дистиллированную воду по аналогичной схеме. За 30 минут до тестирования животным I и II опытных групп соответственно вводили внутрибрюшинно пикротоксин и бикукуллин в дозе 1 мг/кг. Животным I и II контрольных групп, также за 30 минут до тестирования, в аналогичной дозе вводили соответственно пикротоксин и бикукуллин. Влияние испытуемого средства на ГАМК-ергическую систему исследовали по числу наказуемых взятий воды в конфликтной ситуации по *Vogel* (Воронина и др., 2012 б).

Результаты исследований, представленные на рисунке 4.6.1, свидетельствуют, что введение животным пикротоксина и бикукуллина вызывает снижение числа наказуемых взятий воды в 2,4 и 3,4 раза соответственно по сравнению с показателями интактных животных.

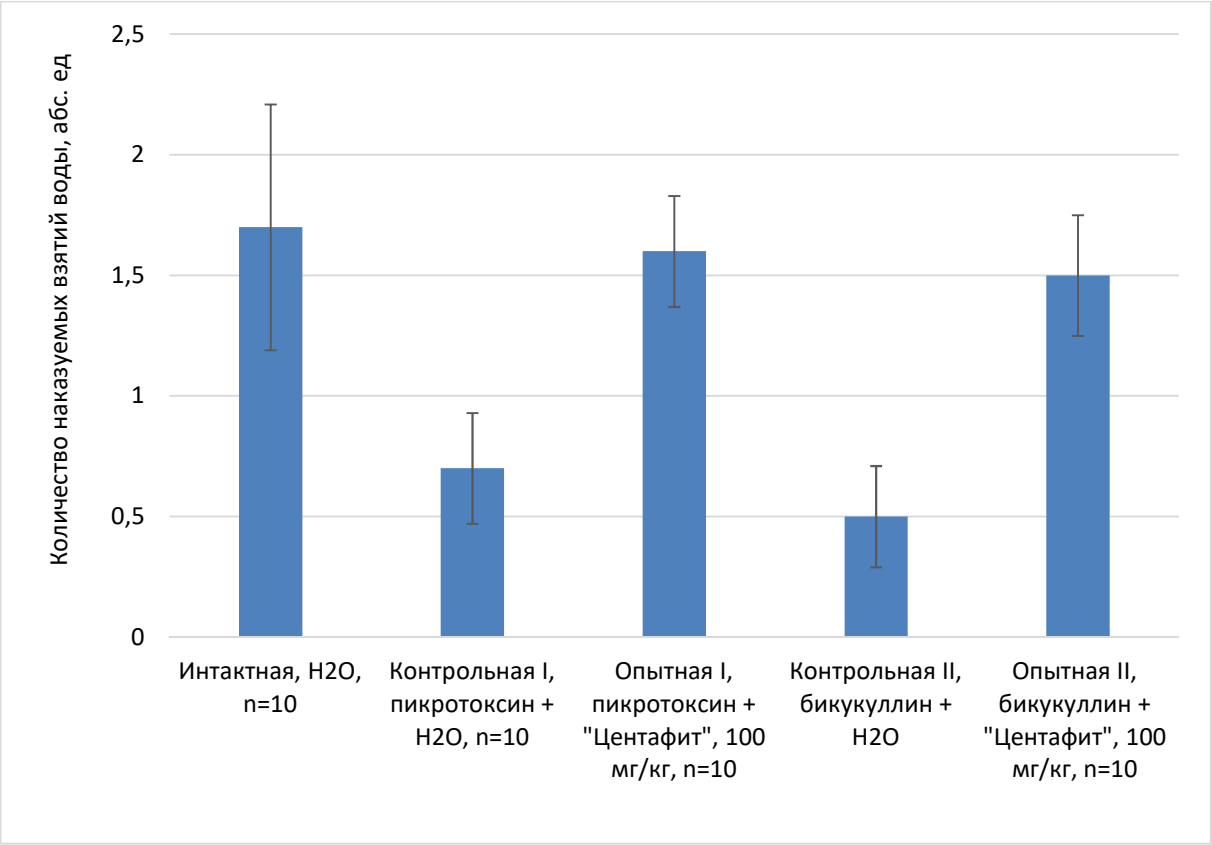

Рисунок 4.6.1 – Влияние «Центафита» на ГАМК-ергическую систему

Использование фитоэкстракта в дозе 100 мг/кг способствовало ограничению анксиогенного эффекта пикротоксина и бикукуллина – количество наказуемых взятий воды у животных I и II второй опытной групп было в среднем в 2,0 раза выше показателя контрольных животных. Полученные данные свидетельствуют о том, что «Центафит» оказывает стимулирующее влияние на ГАМК-ергическую систему.

Таким образом, анксиолитическое действие «Центафита» связано с его влиянием на активацию тормозной ГАМК-ергической системы.

ГЛАВА 5 ИССЛЕДОВАНИЕ ИММУНОМОДУЛИРУЮЩИХ СВОЙСТВ ЭКСТРАКТА СУХОГО «ЦЕНТАФИТ»

5.1 Влияние на гуморальное звено иммунного ответа

Эксперименты проведены на 30 белых мышах-самцах линии F1 (CBA x C57B1/6) массой 18–20 г. Животные опытной группы получали водный раствор «Центафита» в дозе 100 мг/кг в течение 14 дней, на фоне иммуносупрессии после 5 дней введения азатиоприна в дозе 50 мг/кг. Интактная группа животных получала дистиллированную воду в аналогичном объеме. Контрольная группа животных, получала азатиоприн в дозе 50 мг/кг 1 раз в сутки в течение 5 дней. Исследования проводили на 20 день эксперимента. Состояние гуморального иммунитета оценивали по количеству антителообразующих клеток (АОК), определяемых методом локального гемолиза (Cunningham, 1965).

В результате проведенных исследований, была выявлена эффективность «Центафита» в реакции гуморального звена иммунного ответа в условиях азатиоприновой иммуносупрессии. Введение азатиоприна приводило к снижению как абсолютного числа АОК, так и числа АОК на 10^6 спленоцитов на 37 % и 40 % соответственно, по сравнению с теми же показателями в интактной группе (Таблица 5.1.1).

Таблица 5.1.1 – Влияние «Центафита» на антителообразование у белых мышей на фоне азатиоприновой иммуносупрессии

Группы животных	Абсолютное число АОК на селезенку	Число АОК на 10^6 спленоцитов
Интактная, n=10	46199 ± 2203	272,0 ± 22,01
Контрольная (азатиоприн), n=10	29328 ± 2368	163,1 ± 10,02
Опытная (азатиоприн + «Центафит»), n=10	42286 ± 2530*	267,0 ± 22,03*

При введении животным «Центафита» в дозе 100 мг/кг на фоне иммуносупрессии наблюдали достоверное увеличение количества АОК как в абсолютных значениях, так и при расчете на 10^6 спленоцитов; при этом первый показатель превышал уровень азатиоприновой супрессии в 1,4 раза, а второй – в 1,6 раз.

5.2 Влияние на клеточное звено иммунитета

Эксперименты проведены на 30 белых мышах-самцах линии F1 (СВА х С57В1/6) массой 18–20 г. Животные опытной группы получали водный раствор «Центафита» на фоне азатиоприна в экспериментально-терапевтической дозе 100 мг/кг в объеме 10 мл/кг внутрижелудочно 1 раз в сутки в течение 14 дней за 30 мин до кормления. Интактная группа животных получала дистиллированную воду по аналогичной схеме. Контрольная группа животных, получала азатиоприн в дозе 50 мг/кг 1 раз в сутки в течение 5 дней. Результаты исследований представлены на рисунке 5.2.1.

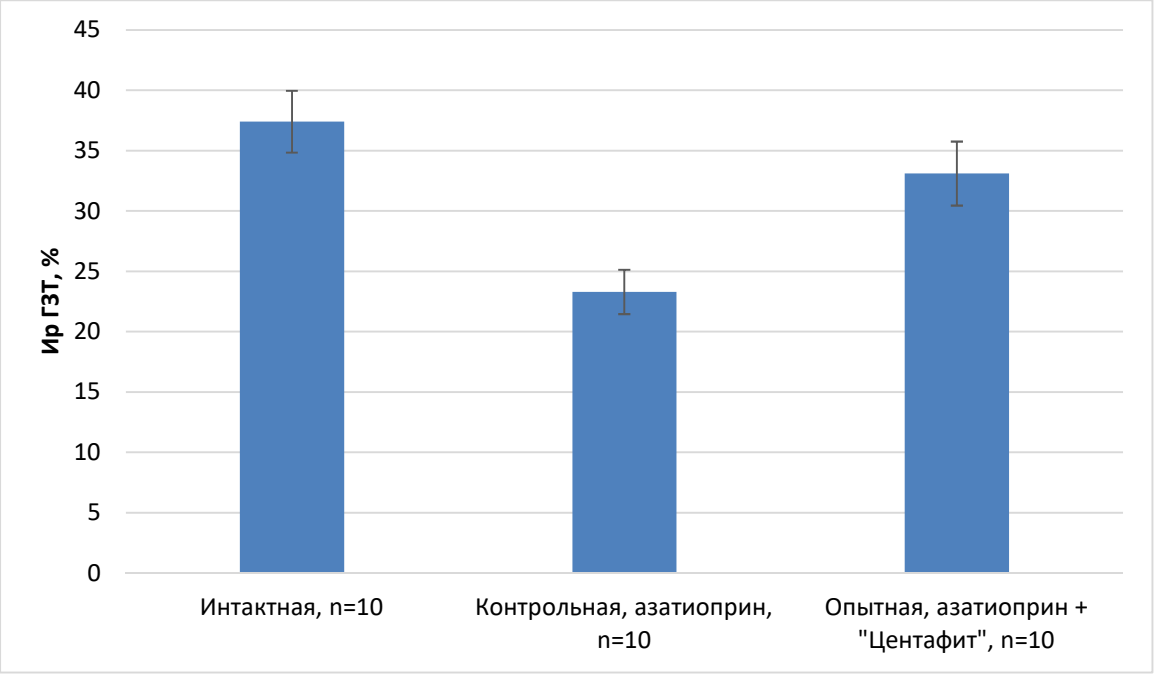

Рисунок 5.2.1 – Влияние «Центафита» на выраженность реакции гиперчувствительности замедленного типа у белых мышей на фоне азатиоприновой иммуносупрессии

Исследования проводили на 20 день эксперимента. Действие испытуемого средства на состояние клеточного звена иммунного ответа оценивали в реакции гиперчувствительности замедленного типа (ГЗТ) согласно стандартной методике (Хаитов и др., 2012 б).

При исследовании влияния «Центафита» на клеточно-опосредованную реакцию ГЗТ установлено, что испытуемое средство восстанавливает индекс данной реакции (Ир ГЗТ) в условиях азатиоприновой иммуносупрессии. Введение азатиоприна приводило к снижению Ир ГЗТ на 38 % по сравнению с тем же показателем в интактной группе. При введении испытуемого средства на фоне иммунодепрессии наблюдали увеличение Ир ГЗТ в 1,4 раза по сравнению с контролем (Рисунок 5.2.1).

5.3 Влияние на состояние макрофагального звена иммунитета

Эксперименты проведены на 30 белых мышах-самцах линии F1 (СВА х С57В1/6) массой 18–20 г. Влияние испытуемого средства на состояние макрофагального звена иммунитета определяли на фоне иммуносупрессии, вызванной цитостатиком азатиоприном. Животные опытной группы получали водный раствор «Центафита» на фоне азатиоприна в экспериментально-терапевтической дозе 100 мг/кг в объеме 10 мл/кг внутрижелудочно 1 раз в сутки в течение 14 дней за 30 мин до кормления. Интактная группа животных получала дистиллированную воду по аналогичной схеме. Контрольная группа животных, получала азатиоприн в дозе 50 мг/кг 1 раз в сутки в течение 5 дней. Исследования проводили на 20 день эксперимента.

Животных декапитировали под легким эфирным наркозом, состояние макрофагального звена иммунного ответа оценивали в реакции фагоцитоза перитонеальных макрофагов в отношении частиц коллоидной туши (Хаитов и др., 2012 а). Результаты проведенных исследований представлены на рисунке 5.3.1.

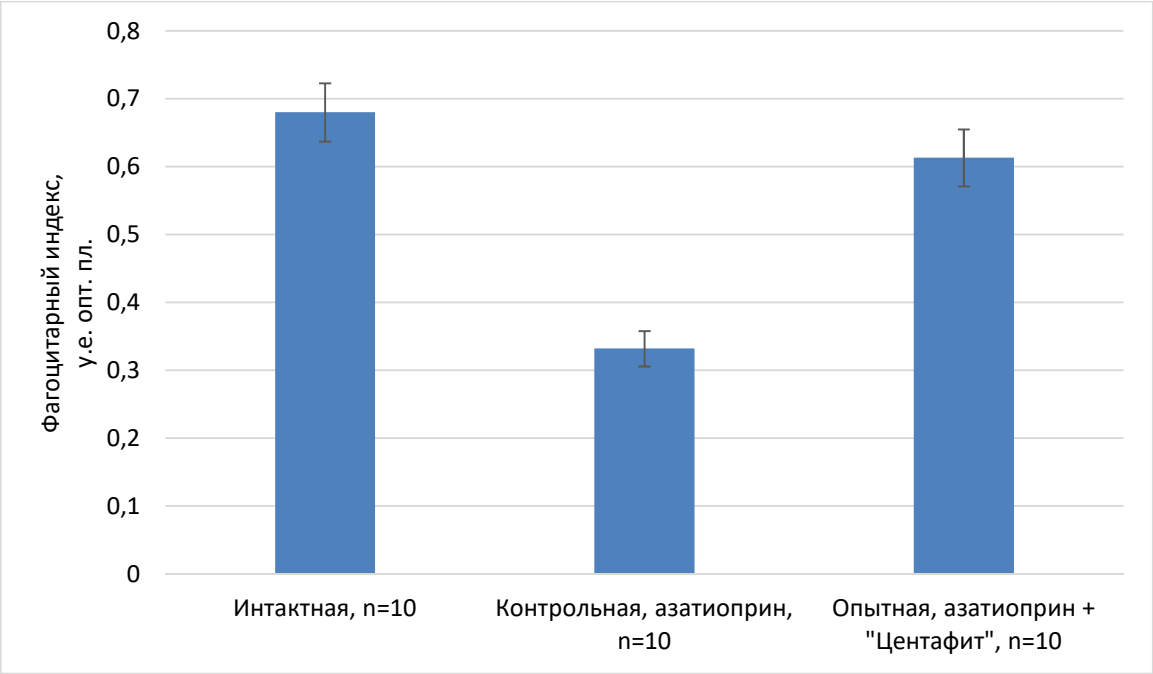

Рисунок 5.3.1 – Влияние «Центафита» на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов у белых мышей на фоне азатиоприновой иммуносупрессии

При исследовании влияния «Центафита» на фагоцитарную активность перитонеальных макрофагов на фоне азатиоприна установлено, что данное средство восстанавливает фагоцитарный индекс. Введение азатиоприна приводило к снижению фагоцитарного индекса на 51 % по сравнению с тем же показателем в интактной группе. Применение исследуемого средства на фоне иммунодефицита способствовало увеличению фагоцитарного индекса в 1,8 раза по сравнению с данными в контрольной группе (Рисунок 5.3.1).

Таким образом, курсовое введение экстракта сухого «Центафит» выявило его иммуномодулирующие свойства по отношению к реакциям клеточного, гуморального и макрофагального звеньев иммунного ответа при экспериментальном иммунодефиците. «Центафит» в дозе 100 мг/кг ослабляет супрессивное действие азатиоприна на клеточно-опосредованную иммунную реакцию, антителогенез и фагоцитоз макрофагов.

ГЛАВА 6 ИЗУЧЕНИЕ ОСОБЕННОСТЕЙ МЕХАНИЗМОВ АДАПТОГЕННОГО ДЕЙСТВИЯ ЭКСТРАКТА СУХОГО «ЦЕНТАФИТ»

6.1 Исследование мембраностабилизирующей активности в условиях *in vitro*

Мембраностабилизирующую активность исследуемого средства оценивали в моделях перекисного и осмотического гемолиза с 1 %-ной суспензией эритроцитов донорской крови (Er/m) в условиях *in vitro*. Перекисный гемолиз эритроцитов вызывали реактивом Фентона (Repka, 1991); осмотический гемолиз – созданием гипотонических условий в реакционной смеси (Ковалев и др., 1986). Испытуемое растительное средство исследовали в концентрациях 0,01; 0,1; 1,0; 10, 100 и 500 мкг/мл. В качестве вещества-сравнения использовали аскорбиновую кислоту (*Sigma Aldrich, USA*) в конечных концентрациях: 0,0002; 0,001; 0,01; 0,1; и 0,5 мкг/мл. Мембраностабилизирующее действие испытуемого средства и вещества-сравнения оценивали в процентах по отношению к контролю.

Полученные результаты подвергали логарифмированию по концентрационной шкале с последующим регрессионным анализом и определением величины 50 % ингибирования гемолиза эритроцитов на фоне введения в инкубационную среду экстракта сухого «Центафит». Внесение исследуемого экстракта в инкубационную среду способствовало снижению интенсивности $^{\bullet}OH$-опосредованного окисления плазматической мембраны эритроцитов. При этом повышение концентрации экстракта в инкубационной среде до 500 мкг/мл, сопровождалось возрастающей мембраностабилизирующей активностью. Дальнейшее повышение концентрации «Центафита» вызывало разрушение плазматической мембраны эритроцитов, с последующей денатурацией гемопротеина. Результаты проведенных исследований представлены в таблице 6.1.1.

Таблица 6.1.1 – Мембраностабилизирующая активность «Центафита» в модельной системе *in vitro*

Объект	Концентрация, мкг/мл	Перекисный гемолиз, %	Осмотический гемолиз, %
«Центафит»	500	11,6 ± 0,33	6,7 ± 0,14
	100	11,0 ± 0,41	10,6 ± 0,51
	10	37,0 ± 1,24	28,6 ± 1,62
	1,0	40,8 ± 1,15	37,8 ± 2,11
	0,1	49,2 ± 3,10	50,2 ± 2,45
	0,01	74,5 ± 2,55	58,5 ± 2,05
	IC_{50}, мкг/мл	0,97 ± 0,020	0,11 ± 0,010
Аскорбиновая кислота	0,5	28,0 ± 1,12	10,6 ± 0,43
	0,1	34,8 ± 1,20	14,4 ± 0,35
	0,01	48,9 ± 2,31	24,8 ± 1,10
	0,001	56,6 ± 2,17	50,6 ± 2,02
	0,0002	67,7 ± 2,42	55,5 ± 2,18
	IC_{50}, мкг/мл	0,009 ± 0,0003	0,002 ± 0,0001

Наиболее выраженное мембраностабилизирующие действие экстракта «Центафит» проявлялось по отношению к перекисному и осмотическому гемолизу в концентрации 500 мкг/мл. В указанной дозе степень перекисного и осмотического гемолиза уменьшалась на 89 и 93 % соответственно по сравнению с контролем. Высокая мембраностабилизирующая активность была выявлена и при использовании экстракта «Центафит» в концентрации 10 мг/мл: степень перекисного и осмотического гемолиза снижалась на 63 % и 71 % соответсвенно по отношению к показателям контрольных проб; а при использовании минимальных доз 0,97 мкг/мл и 0,11 мкг/мл отмечалось 50 % ингибирование процесса перекисного и осмотического гемолиза эритроцитов.

Таким образом, в результате проведенных исследований установлено, что экстракт сухой «Центафит» обладает выраженной мембраностабилизирующей активностью в условиях *in vitro.*

Выявленное действие исследуемого фитосредства обусловлено мембраностабилизирующим эффектом входящих в его состав растительных компонентов: *S. centauroides, B. crassifolia, Rosa spp.,* характеризующихся высоким содержанием полифенольного комплекса, дубильных веществ и флавоноидов, оказывающих выраженное мембраностабилизирующее действие (Азам и др., 2009; Свиридов и др., 2015).

6.2 Исследование антиоксидантной активности в условиях *in vitro*

6.2.1 Оценка антиоксидантной активности с применением желточных липопротеидов

Антиоксидантную активность комплексного растительного средства «Центафит» оценивали по влиянию на процесс металлкатализируемой модификации белков в модельной биологической системе желточных липопротеидов в условиях *in vitro* (Клебанов, 1988). В качестве веществ-сравнения использовали кверцетин, рутин, арбутин, аскорбиновую кислоту (*Sigma Aldrich, USA*). Как следует из данных, приведенных в рисунке 6.2.1.1 «Центафит» проявляет, выраженные антиоксидантные свойства ингибируя деградацию липопротеидов при металлкатализируемом окислении (IC_{50} = 65,8 мкг/мл). Активность испытуемого средства, в данных модельных системах, была сравнима с веществом сравнения – арбутином.

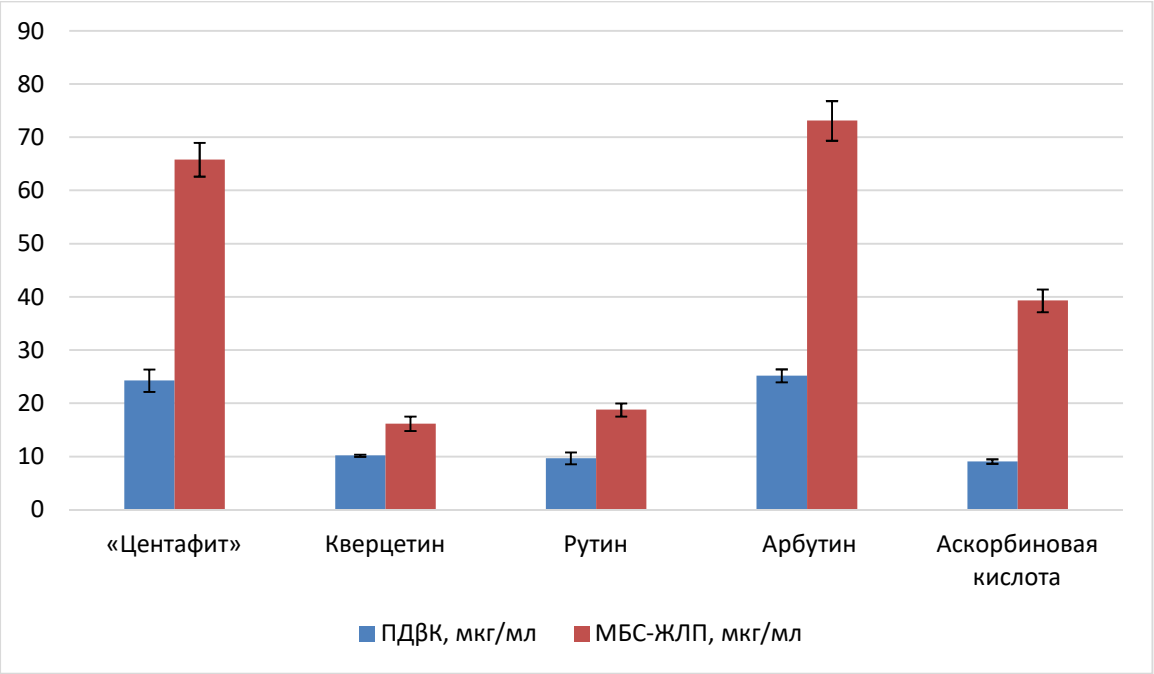

Рисунок 6.2.1.1 – Антиоксидантная активность «Центафита» в модельной системе, IC_{50}

6.2.2 Оценка антиоксидантной активности по степени его влияния на динамику перекисной деструкции β-каротина

Антиокислительную активность исследуемого средства оценивали по степени его влияния на динамику перекисной деструкции β-каротина в системе ДМСО-H_2O_2-олеиновая кислота (Olennikov, 2007). Как следует из данных, приведенных в рисунке 6.2.1.1, «Центафит» проявляет выраженные антиоксидантные свойства, предотвращая окисление β-каротина от перекисной деструкции (IC_{50} = 24,2 мкг/мл). Активность испытуемого средства, в данных модельных системах, была сравнима с веществом сравнения – арбутином.

6.2.3 Исследование антирадикальной активности

Антирадикальную активность по отношению к 2,2-дифенил-1пикрилгидразил-радикалу (DPPH˙) определяли бессубстратным методом

(Adesanwo et al., 2013). Испытуемый экстракт вносили в инкубационную среду в концентрациях 10, 30, 50, 80, 100 и 110 мкг/мл.

Связывание супероксидных радикалов ($O_2^{\cdot -}$) определяли в неэнзиматической системе феназинметосульфат/НАДН (Rahini, Anuradha, 2014). Экстракт сухой в инкубационную среду вносили в исходных концентрациях 5,0; 25,0; 100,0 и 600,0 мкг/мл.

Связывание нитрозил-радикала (NO) оценивали нитропруссидным методом (Rahini, Anuradha, 2014). «Центафит» исследовали в исходных концентрациях 10, 50, 150, 300, 700, 1000 мкг/мл.

Fe^{2+}-хелатирующую активность экстракта сухого «Центафит» определяли с использованием о-фенантролинового метода (Оленников и др., 2008). Исследование проведено с использованием метода, основанного на способности исследуемого вещества связывать ионы железа (Fe^{2+}). Модельная система состояла из 0,2 мл 25 мМ раствора о-фенантролина; 25 мкл 12,2 мМ раствора Fe_2SO_4; 2,6 мл 96 % этанола. Комплексное растительное средство «Центафит» исследовали в исходных концентрациях 50, 100, 300, 500, 1000 мкг/мл. В качестве веществ-сравнения использовали кверцетин, рутин, арбутин и аскорбиновую кислоту (*Sigma Aldrich, USA*).

Установлено, что «Центафит» обладает выраженным антирадикальным действием. Так, исследуемое средство проявляет активность в отношении молекул $DPPH^{\bullet}$, что обусловлено наличием в его составе соединений фенольной природы. Величина 50 % связывания $DPPH^{\bullet}$ растительным средством составила 61,4 мкг/мл, что превосходит таковой показатель для вещества-сравнения – арбутина. В экспериментах по определению способности исследуемого фитосредства связывать активные формы кислорода ($O_2^{\bullet -}$ и NO) и металлы переменной валентности установлено наличие антирадикальной активности в отношении указанных реакционноспособных частиц. Результаты исследований представлены в таблице 6.2.3.1.

Таблица 6.2.3.1 – Антирадикальная активность «Центафита», IC_{50}

Объект	Реакционно-активные молекулы			
	$DPPH^{\cdot}$ мкг/мл	$O_2^{\bullet-}$ мкг/мл	Fe^{2+} мкг/мл	NO мкг/мл
«Центафит»	61,4 ± 2,13	28,6 ± 3,10	639,2 ± 11,15	55,2 ± 2,31
Кверцетин	10,3 ± 0,54	31,6 ± 2,11	>5000	170,2 ± 4,21
Рутин	15,1 ± 1,13	2,2 ± 0,15	>5000	15,3 ± 1,12
Арбутин	105,4 ± 2,71	>550	>5000	35,7 ± 1,26
Аскорбиновая кислота	4,8 ± 0,15	91,3 ± 3,22	110,0 ± 6,42	975,0 ± 27,13

Так, изучаемое растительное средство интенсивнее взаимодействует с $O_2^{\bullet-}$-радикалом (IC_{50} = 28,6 мкг/мл) в модельной системе *in vitro*, чем аскорбиновая кислота и арбутин. $O_2^{\bullet-}$-связывающая активность комплексного средства сопоставима с кверцетином (IC_{50} = 31,6 мкг/мл). В условиях *in vitro* показано, что исследуемое фитосредство проявляет выраженную активность в отношении связывания молекул NO (IC_{50} = 55,2 мкг/мл). В данном виде активности, фитосредство превосходило кверцетин и аскорбиновую кислоту, незначительно уступая арбутину. Также «Центафит» проявляет выраженную Fe^{2+}– хелатирующую активность (IC_{50} = 639,2 мкг/мл), которая выше таковой – кверцетина, рутина и арбутина (Таблица 6.2.3.1).

Таким образом, исследуемое комплексное средство проявляет в условиях *in vitro* выраженную антиоксидантную активность, предотвращая окисление биомакромолекул в модельных системах, а также антирадикальную активность в отношении таких реакционно-активных частиц, как 2,2-дифенил1-пикрилгидразил-ралдикал ($DPPH^{\cdot}$), супероксидный анион-радикал, оксид азота и Fe^{2+}.

ГЛАВА 7 ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

Результаты проведенных исследований экстракта сухого «Центафит» выявили широкий спектр его адаптогенной активности и повышение неспецифической сопротивляемости организма лабораторных животных к действию экстремальных факторов различной природы: к острому иммобилизационному и хроническому эмоциональному стрессу, интенсивным физическим нагрузкам, гипоксическим состояниям, к токсическому действию цитостатика азатиоприна.

Исходя из концепции «общего адаптационного синдрома», растительные адаптогены являются естественными биорегуляторами, которые под воздействием стрессорных факторов способствуют более эффективной работе адаптации, в результате чего они сводят к минимуму реакцию организма на стресс. Уменьшая негативное влияние гиперергических повреждений в стадии тревоги, усиливают восстановительные метаболические процессы в стадии резистентности и устраняют или задерживают развитие стадии истощения (Panossian et al.,1999; Liao et al., 2018).

Адаптация к неблагоприятным факторам различной природы является многоступенчатым процессом и включает в себя как центральные, так и периферические клеточные механизмы. Основным моментом процесса адаптации является активация центральных стресс-лимитирующих механизмов, которые при стрессе ограничивают гиперактивацию симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-адреналовой систем, с уменьшением выброса катехоламинов, кортикотропин-рилизинг-гормона и, соответственно, глюкокортикоидов.

Нами установлено, что широкий спектр адаптогенной активности «Центафита» обусловлен оптимизацией баланса центральных и периферических стресс-реализующих и стресс-лимитирующих систем организма. Центральные механизмы его адаптогенного действия связаны с

ограничением гиперактивации центральных стресс-реализующих систем: симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-адреналовой, о чем свидетельствует снижение под его влиянием концентрации основных стрессорных гормонов – адреналина, норадреналина, АКТГ и кортикостерона при хроническом эмоциональном стрессе. Можно полагать, что терпеноиды, входящие в состав исследуемого средства, имея структурное сходство с глюкокортикоидами, обладают способностью влиять на рецепторы этих гормонов, снижая их чувствительность и подавляя фармакологические эффекты глюкокортикоидов (Арушанян, Бейер, 2009).

Также механизмы адаптогенного действия «Центафита» могут быть связаны с повышением синтеза таких нейротрансмиттеров как серотонин, глицин, опиоидных и других пептидов, модулирующих активность стресс-реализующих систем, тем самым ограничивающих стресс-реакцию и адаптирующих организм к повторяющимся умеренным стрессорным факторам (Меерсон, 1993).

Наряду с этим нами показано, что центральные механизмы адаптогенного действия экстракта «Центафит» обусловлены активацией стресс-лимитирующих тормозных систем. ГАМК-ергическая система относится к центральным стресс-лимитирующим системам и играет основную роль в регуляции гипоталамо-гипофизарно-надпочечниковой системы. Известно, что ГАМК является численно доминирующим нейротрансмиттером в гипоталамусе, что подчеркивает важность тормозных путей нейронов паравентрикулярного ядра гипоталамуса (Herman et al., 2004; Cullinan et al., 2008). Об активации ГАМК-ергической системы под влиянием «Центафита» свидетельствуют данные о сохранности питьевого рефлекса в конфликной ситуации по *Vogel* на фоне введения антагониста $ГАМК_А$-рецепторов – бикукуллина, а также хлорных каналов ГАМК-бензодиазепинового рецепторного комплекса – пикротоксина.

Данный механизм адаптогенного действия «Центафита» также нашел подтверждение в серии экспериментов по изучению его влияния на

поведенческую активность лабораторных животных. Так, курсовое введение «Центафита» способствовало уменьшению выраженности реакции тревоги у белых крыс, находящихся в неизвестной обстановке, на что указывает повышение ориентировочно-исследовательской активности, а также уменьшение вегетативных проявлений тревожной реакции. Кроме того показано, что исследуемое средство стимулирует когнитивные функции, способствуя ускорению времени выработки условного рефлекса пассивного избегания и сохранению памятного следа в отдаленные сроки наблюдения, что свидетельствует о повышении под его влиянием умственной активности. Такая способность является характерной для всех адаптогенов растительного происхождения, таких как женьшень, элеутероккок, левзея и др. (Дардымов, 1976; Panossian, Wikman, 2009). При этом установлено, что наиболее выраженный анксиолитический эффект проявляется у животных, получавших «Центафит» в дозе 100 мг/кг, а повышение когнитивной активности – в дозе 150 мг/кг.

Подтверждением наличия у «Центафита» анксиолитических и антидепрессивных свойств послужили данные, полученные при исследовании его стресс-протективного влияния при хроническом эмоциональном стрессе. Так, было установлено, что его курсовое введение сопровождается уменьшением времени иммобильности белых крыс и увеличением времени до первого эпизода неподвижности в тесте «подвешивание за хвост».

При исследовании спектра адаптогенной активности «Центафита» выявлена способность экстракта повышать общую физическую выносливость, на что указывает увеличение продолжительности плавания белых крыс с 7% нагрузкой. Актопротекторная активность исследуемого средства была связана с увеличением ресинтеза АТФ в активно работающих мышцах за счет перехода с гликолитического пути на более выгодный путь окислительного фосфорилирования. На это указывает также уменьшение метаболического ацидоза за счет снижения уровня МК и соотношения

МК/ПВК в активно работающей скелетной мускулатуре. Под влиянием испытуемого средства наблюдалось повышение содержания гликогена в печени, что обеспечивало достаточный резерв субстрата окисления при интенсивной физической работе.

Существенный вклад в реализацию актопротекторной активности «Центафита» вносит также наличие у него анаболических свойств, о чем свидетельствует увеличение прироста массы тела неполовозрелых белых крыс при курсовом длительном введении экстракта. При этом прирост массы тела происходил в основном за счет увеличения массы скелетной мускулатуры и достоверного повышения концентрации в них белка, а также гликогена в печени. Анаболическое действие исследуемого средства можно связать с возможностью биологически активных веществ, преимущественно – фитоэкдистероидов, связываться с ядерными рецепторами и оказывать прямое геномное влияния на синтез белка в клетках, о чем свидетельствует достоверное увеличение уровня ДНК и РНК в гомогенате скелетных мышц белых крыс, получавших исследуемое средство. При этом «Центафит» не оказывает влияния на уровень СТГ в сыворотке крови, вследствие чего не вызывает специфических гормональных эффектов, как при приеме анаболических стероидов.

Способность экдистероидсодержащих соединений оказывать актопротекторную и анаболическую активность доказана многими экспериментальными исследованиями. Так, препарат «Экдистен», полученный из левзеи сафлоровидной, усиливает биосинтез белка в организме, повышает общую физическую выносливость, способствует синтезу макроэргических соединений на фоне интенсивных физических нагрузок и гипоксии (Камилова, 2013; Могиленко, 2015; Сыров и др., 2016).

Другой механизм актопротекторного действия «Центафита» связан с наличием у него антигипоксических свойств, поскольку стабильная работа энергетических процессов при интенсивной физической работе связана с улучшением доставки кислорода в ткани и стабилизацией мембранных

структур митохондрий, что улучшает энергообеспечение работающих тканей и органов (Агаджанян, Чижов, 2003). Исследование антигипоксических свойств «Центафита» при кислороддефицитных состояниях различного генеза показало улучшение доставки кислорода к тканям и оптимизацию лимитирующих звеньев энергетического обмена в клетке. Влияя на все этапы транспорта кислорода к тканям и активируя ферментные системы дыхательной цепи митохондрий, исследуемое средство стимулирует аэробный ресинтез АТФ и уменьшает выраженность метаболического ацидоза, что увеличивает выносливость животных при интенсивных физических нагрузках.

Можно полагать, что указанные свойства «Центафита» объясняются наличием в его составе серпухи васильковой, содержащей экдистероидные соединения (Свиридов, 2016). Экдистероиды способствуют стимуляции адаптивных реакций в организме, активации процессов синтеза структурных и функциональных белков, оказывая нейромодулирующее влияние (Пчеленко и др., 2002). Так, после курсового введения экдистероидсодержащего препарата «Серпистен», выделенного из серпухи венценосной (*Serratula coronate* L.), было выявлено увеличение содержания белков теплового шока Hsp70 в тканях крысы (Андреева, 2012). Установлено, что наиболее высокое содержание экдистероидов и флавоноидов в серпухе васильковой, входящей в состав экстракта сухого «Центафит», находится в листьях и составляет от 1,15 до 2,12 % и от 2,18 до 3,85 % соответственно (Цыбиктарова, 2016). По сравнению с наиболее известным видом из рода *Serratula* серпухой венценосной, по содержанию в листьях экдистерона заметно не отличается и составляет *S. centauroides* (1,69 %) и *S. coronata* (1,70 %), а в верхних частях стеблей и соцветиях серпухи васильковой концентрация 2 раза выше, чем у *S. coronata* (Ануфриева и др., 1998; Воробьева и др., 2005).

Наличие экдистероидов, входящих в состав исследуемого средства, объясняет молекулярный механизм стресс-защитного эффекта растительных

адаптогенов, связанных с контролем ключевых медиаторов реакции на стресс – белков теплового шока Hsp70 и Hsp16, протеинкиназ JNK, фактора транскрипции Forkhead Box O FOXO, кортизола и оксида азота. В данном случае растительные адаптогены действуют как «легкие вакцины», активируя механизмы самозащиты, с формированием процесса долговременной адаптации (Panossian, Wikman, 2010; Panossian, 2017). Морфофункциональные изменения, происходящие в процессе долговременной адаптации, называют структурным следом адаптации, при которой происходит не только приспособление организма к изменившимся условиям, но и повышение резистентности к повреждающим воздействиям (Меерсон, Пшенникова, 1988; Судаков,1998).

Наряду с центральными защитными механизмами, периферические стресс-лимитирующие системы направлены, в основном, на повышение устойчивости клеточных структур и органов к повреждающему действию стрессорных факторов. Антиоксидантная система является одной из основных природных систем, непосредственно защищающих мембранные структуры клеток от действия свободных радикалов и ограничивающих процессы свободнорадикального окисления биомакромолекул при стрессе (Sakac, 2000; Vertuani, 2004; Valko et al.,2006).

Нами показано, что курсовое введение исследуемого средства в экспериментально-терапевтической дозе 100 мг/кг при остром иммобилизационном и хроническом эмоциональном стрессах, а также на фоне интенсивной физической нагрузки снижало концентрацию конечного продукта процессов СРО – малонового диальдегида, а также повышало концентрацию восстановленного глутатиона в крови и активность ферментных систем антиоксидантной защиты – супероксиддисмутазы и каталазы. Активация антиоксидантной системы под влиянием экстракта «Центафит» также была показана в экспериментах *in vitro* по степени его влияния на динамику перекисной деструкции β-каротина. Активность

испытуемого средства была сопоставима с веществом сравнения – арбутином.

В модельных системах было также установлено, что исследуемое средство обладает широким диапазоном антирадикальной активности по отношению к радикалам $DPPH^{\bullet}$, супероксидным анион-радикалам и радикалам оксида азота. Кроме того, было установлено опосредованное антиоксидантное действие «Центафита, связанное с его хелатирующей активностью в отношение ионов железа, что способствует ограничению скорости свободнорадикальных реакций.

Поскольку известно, что при индукции процессов СРО происходит повреждение мембранных структур клеток, была исследована мембраностабилизирующая активность «Центафита» в модельных системах *in vitro*. Установлена способность «Центафита» снижать интенсивность перекисной декструкции мембраны эритроцитов. Можно полагать, что мембраностабилизирующая активность «Центафита» связана с входящими в его состав веществами фенольной природы (флавоноиды, дубильные вещества, фенолкарбоновые кислоты и др.), обладающими способностью связывать ионы металлов переменной валентности, $^{\bullet}OH$ и $O_2^{\bullet-}$ молекул и др. (Азам и др., 2009; Свиридов и др., 2015). В частности, данные соединения содержатся в растительных компонентах «Центафита»: в *B. crassifolia* – гидрохинон, арбутин, дигидрокверцетин, кверцетин, рутин, апегенин, кемпферол (Шилова, 2006; Данилов, 2012; Pozharitskaya, 2007); в *I. helenium* – кверцетин, кофейная кислота, скополетин, умбеллиферон (Зеленская, 2006). Также аскорбиновая кислота, содержащаяся в большом количестве в шиповнике, является мощным природным антиоксидантом (Ламан, Копылова, 2017) и регулирует процессы метаболизма.

Известно, что растения, входящие в состав «Центафита»: серпуха васильковая, бадан толстолистный и эхинацея пурпурная – обладают адаптогенной, противострессорной активностью (Шантанова и др., 2008; Яременко, 2008; Shikov et al., 2014). Наличие в серпухе экдистероидных

соединений способствует активации процессов синтеза структурных и функциональных белков, в том числе – белков теплового шока (Пчеленко и др., 2002); а фенольные соединения и флавоноиды, содержащиеся в бадане толстолистном и эхинацее пурпурной, обеспечивают иммуномодулирующий и антиоксидантный эффекты (Sloleyetal., 2001). Таким образом, комплекс биологически активных веществ, содержащихся в указанных растениях, оказывает полимодальное противострессовое и антидепрессивное действие.

Иммуномодулирующее действие в целом характерно для растительных адаптагенов. Нами было установлено иммуностимулирующее действие «Центафита» при иммуносупрессивном состоянии, вызванном азатиоприном. Курсовое его введение в дозе 100 мг/кг ослабляет супрессивное влияние азатиоприна на клеточно-опосредованную иммунную реакцию, антителогенез и фагоцитоз макрофагов. Его выраженные иммуномодулирующие свойства обусловлены фитоэкдистероидами, входящими в состав серпухи васильковой, что было подтверждено ранними исследованиями этого растения (Свиридов и др., 2015). Известно, что эхинацея пурпурная является природным иммуномодулятором, в состав которой входят гидроксикоричные кислоты, полиины эфирных масел – эхинолон и алкиламид ненасыщенных кислот – эхинацеин, которые способствуют усилению миграции фагоцитов и моноцитов к очагу инфекции, увеличению растворимости и циркуляции иммунных комплексов (Амелина, Ванштейн, 2017).

Таким образом, выраженные адаптогенные свойства нового комплексного растительного средства «Центафит» обусловлены широким набором биологически активных веществ, способствующих формированию состояния неспецифически повышенной резистентности организма к действию стрессорных факторов различной природы.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Комплексное растительное средство «Центафит» в экспериментально-терапевтических дозах 100–200 мг/кг проявляет выраженные адаптогенные свойства, повышая неспецифическую резистентность организма лабораторных животных к действию интенсивных физических нагрузок, острому иммобилизационному и хроническому эмоциональному стрессу, гипоксии (гемической, гиперкапнической, тканевой), токсическому действию цитостатика азатиоприна. Курсовое введение экстракта «Центафит» приводит к оптимизации баланса стресс-реализующих и стресс-лимитирующих систем. Снижение гиперактивации стресс-реализующих систем: симпато-адреналовой и гипоталамо-гипофизарно-адреналовой проявляется в уменьшении концентрации катехоламинов, АКТГ и кортикостерона на фоне стресса. Активация стресс-лимитирующих тормозных систем ЦНС под влиянием испытуемого средства связана с повышением чувствительности рецепторов ГАМК-ергической системы. «Центафит» стимулирует когнитивные функции у животных, что выражается в ускорении выработки условного рефлекса пассивного избегания и сохранности памятного следа в отдаленные сроки наблюдения.

Наряду с центральными механизмами адаптогенного действия «Центафита» выявлены и периферические эффекты, связанные с оптимизацией энергетического обмена вследствие активации ресинтеза АТФ, уменьшением выраженности метаболического ацидоза и увеличением углеводных запасов организма. При этом активация ресинтеза АТФ под влиянием исследуемого средства осуществляется за счет процессов окислительного фосфорилирования, вследствие повышения кислородной обеспеченности работающих клеток, что подтверждается полученными нами данными о наличии у «Центафита» выраженных антигипоксических свойств при кислороддефицитных состояниях. Молекулярно-клеточные механизмы адаптогенного действия испытуемого фитосредства связаны с его

способностью ингибировать процессы свободнорадикального окисления биомакромолекул и, тем самым, предотвращать стресс-индуцированную деструкцию клеточных и субклеточных мембран. Подтверждением данного механизма служат полученные результаты об уменьшении концентрации продуктов свободнорадикального окисления биомакромолекул в сыворотке крови животных при действии стрессорных факторов, а также в модельных системах *in vitro.* Показано, что ингибирование процессов свободнорадикального окисления под влиянием «Центафита» связано с наличием у него прямого и опосредованного антиоксидантного действия, благодаря чему повышается устойчивость мембранных структур клеток к экстремальным воздействиям.

ВЫВОДЫ

1. Экстракт сухой «Центафит» в экспериментально-терапевтических дозах обладает широким спектром адаптогенной активности, повышая неспецифическую резистентность организма к действию экстремальных факторов различной природы: интенсивным физическим нагрузкам; гиперкапнической, гемической и тканевой гипоксии; острому иммобилизационному и хроническому эмоциональному стрессу.

2. «Центафит» повышает ориентировочно-исследовательскую активность, снижает уровень тревожности и активирует когнитивные функции.

3. «Центафит» обладает анаболическим действием, проявляет иммуномодулирующие свойства на фоне азатиоприновой иммуносупрессии.

4. Механизмы стресс-протективного влияния экстракта сухого «Центафит» связаны с оптимизацией баланса центральных стресс-реализующих и стресс-лимитирующих систем, а также его способностью ингибировать процессы свободнорадикального окисления биомакромолекул, стабилизировать мембранные структуры клеток, повышать энергетический потенциал клеток при экстремальных воздействиях.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Авдеева О.И. Гармонизация исследований по проведению острой токсичности в соответствии с российскими и зарубежными требованиями / О.И. Авдеева, И.Е. Макаренко, М.Н. Макарова и др. // Международный вестник ветеринарии. – 2015. – № 1. – С.103–109.
2. Асеева Т.А. Использование опыта традиционной тибетской медицины при разработке новых лекарственных средств / Т.А. Асеева, С.М. Баторова, Г.П. Яковлев // Вестник Бурятского научного центра Сибирского отделения Российской академии наук. – 2012. – №3 (7). – С. 267–275.
3. Агаджанян Н.А. Гипоксические, гипокапнические, гиперкапнические состояния / Н.А. Агаджанян, А.Я. Чижов. – М., 2003. – 254 с.
4. Агаджанян Н. А. Проблемы адаптации и учение о здоровье / Н.А. Агаджанян, Р.М. Баевский, А.П. Берсенева. – М., 2006. – 283 с.
5. Азам Н. Антиоксидантная активность лекарственных субстанций и биологически активных веществ / Н. Азам, О.А. Горошко, В.П. Пахомова // Традиционная медицина. – 2009. – № 1. – С. 35–38.
6. Аксиненко С.Г. Корригирующее и адаптогенное влияние комплексных извлечений из растений Сибири в условиях развития стрессорной реакции: автореф. дис. … д-ра мед. наук / С.Г. Аксиненко. – Томск, 2011. – 28 с.
7. Алейникова Т.А. Количественное определение макроэргических соединений мышц (АТФ, креатинфосфата) / Т.А. Алейникова, Г.В. Рубцова // Руководство к практическим занятиям по биологической химии. – 1988. – С. 115–117.
8. Амелина П.С. Эхинацея пурпурная и солодка голая как природные иммуномодуляторы / П.С.Амелина, В.А. Ванштейн // В сборнике: Инновации в здоровье нации Сборник материалов V Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. – 2017. – С. 82–85.

9. Амосова Е.Н. Поиск новых противоязвенных средств из растений Сибири и Дальнего Востока / Е.Н. Амосова, Е.П. Зуева, Т.Г. Разина и др. // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 1998. – Т. 61, № 6. – С. 31–35.
10. Андреева Л.И. Воздействие нового экдистероидсодержащего препарата «Серпистен» на поведенческую активность и формирование клеточной адаптации у крыс при тепловом стрессе / Л.И Андреева, А.А. Бойкова, А.А Быкова // Теоретическая и прикладная экология. – 2012. – № 1. – С. 36–43.
11. Ануфриева Э.Н. Состав и содержание экдистероидов в растениях и культуре ткани *Serratula coronata* / Э.Н. Ануфриева, В.В. Володин, А.М. Носов, М. Гарсиа, Р. Лафон // Физиология растений. – 1998. – № 3. – С. 382–389.
12. Арушанян Э.Б. Растительные адаптогены / Э.Б. Арушанян, Э.В. Бейер. – Ставрополь: Изд-во СтГМА, 2009. – 232 с.
13. Арушанян Э.Б. Стимуляторы психических процессов / Э.Б. Арушанян – Ставрополь, 2003. – 303 с.
14. Арушанян Э.Б. Препараты корня женьшеня и других, растительных адаптогенов как ноотропные средства / Э.Б. Арушанян // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2008. – Т. 71, № 6. – С. 58–66.
15. Баннова А.В. Влияние глюкокортикоидов на баланс мозгового нейротрофического фактора и его проформы в неонатальном гиппокампе / А.В. Баннова, П.Н. Меньшанов, Н.Н. Дыгало // Нейрохимия. – 2015. – № 4.– С. 302–306.
16. Барнаулов О.Д. Стресс-лимитирующие свойства классических фитоадаптагенов / О.Д. Барнаулов, Т.В. Осипова // Обзоры по клинической фармакологии и лекарственной терапии. – 2012. – Т. 10, № 3. – С. 40–49.

17. Беленький М.Л. Элементы количественной оценки фармакологического эффекта / М.Л. Беленький. – Л.: Медицина, 1963. – 150 с.
18. Бочаров Е.В.Нейропротективные свойства фитоадаптогенов / Е.В. Бочаров, В.Г. Кучеряну, О.А. Бочарова, Р.В. Карпова // Вестник Российской Академии Медицинских Наук. – 2008. – № 4.– С. 47–50.
19. Брехман И.И. Элеутерококк / И.И. Брехман. – Л., 1968. – 186 с.
20. Брыкалов А.В. Исследование физиологически активных соединений в препарате из эхинацеи пурпурной / А.В. Брыкалов, Е.М. Головкина, Е.В. Велик, Ф.А. Бостанова // Химия растительного сырья. – 2008. – № 2. – С. 89–92.
21. Буданцев А.Л. Дикорастущие полезные растения России / А.Л. Буданцев, Е.Е. Лесиовская. – СПб., 2001. – 663 с.
22. Васильев А.С. Экдистероиды и их биологическая активность / А.С. Васильев, Н.Ю. Абдрашитова, В.В. Удут // Растительные ресурсы. – 2015. – Т.51, выпуск 6. – С. 229 –259.
23. Воробьева О.В. Стресс и расстройства адаптации / О.В. Воробьева // Российский Медицинский Журнал. – 2009. – Т. 17. – № 11. – С. 789–794.
24. Воробьева А.Н. Фитоэкдистероиды *Serratula centauroides* /.А.Н. Воробьева, В.Г. Рыбин, Е.В. Зарембо, Е.В. Болтенков // Химия природ.соединений. – 2005. – № 1. – С. 85–86.
25. Володина С.О. Ресурсы, биотехнология и использование экдистероид-содержащих растений / С.О. Володина, В.В. Володин, И.Ф. Чадин // Известия Самарского научного центра Российской академии наук. – 2010. – Т. 12, № 1 (3). – С. 668–674.
26. Воронина Т.А Методические рекомендации по доклиническому изучению лекарственных средств с ноотропным типом действия / Т.А. Воронина, Р.У. Островская, Т.Л. Гарибова // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / под ред. А. Н. Миронова. – М., 2012. – С. 285–287.

27. Воронина Т.А. Методические рекомендации по доклиническому изучению транквилизирующего (анксиолитического) действия лекарственных средств / Т.А. Воронина, С.Б. Середин, М.А. Яровая, М.В. Воронин //Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть первая / под ред. А. Н. Миронова. – М., – 2012. – С. 264 – 276.
28. Воронина Т.А. Поведенческие экспериментальные модели депрессии / Т.А. Воронина, Т.Л. Гарибова, В.А. Крайнева // Фармакокинетика и фармакодинамика. – 2017. – № 3. – С. 14–19.
29. Глебов В.В. Психофизиологическая адаптация популяции человека к условиям мегаполиса / В.В. Глебов, К.Ю. Михайличенко, А.Я. Чижов // М.: Российский университет дружбы народов, 2013. – 325 с.
30. Головкина М.Т. Лейкоантоцианы плодов шиповника и их синергизм с аскорбиновой кислотой / М.Т. Головкина, Н.В. Новотельнов, В.В. Седова // Фенольные соединения и их биологические функции. – М., 1968. – С. 189–195.
31. Давыдов В.В. Фитоадаптогены как перспективные иммуномодуляторы / В.В. Давыдов, Е.В. Железкова, В.Г. Морозов // Актуальные проблемы создания новых лекарственных средств. – СПб., 1996. – С. 131–132.
32. Дамдинова Г.Х. Ноотропное действие экстракта шлемника байкальского: автореф. дис. … канд. мед. наук / Г.Х. Дамдинова. – Улан-Удэ, 2001. – 20 с.
33. Данилов М.С. Биологическая активность бадана толстолистного / М.С. Данилов // Вестник Алтайского университета. –2012. – № 2 (89). – С. 49–52.
34. Дардымов И.В. Женьшень, элеутерококк (к механизму биологического действия) / И.В. Дардымов. – М., 1976. – 186 с.
35. Доценко Э.А. Иммунодефициты и некоторые иммуномодулирующие средства / Э.А. Доценко, Д.А. Рождественский, Г.И. Юпатов // Вестник ВГМУ. – 2014. – № 3. – С. 103–120.

36. Дубинина Е.Е. Активность и изоферментный спектр супероксиддисмутазы эритроцитов и плазмы крови человека / Е.Е. Дубинина, Л.А. Сальникова, Л.Ф. Ефимова // Лабораторное дело. – 1983. – № 10. – С.30–33.
37. Жестяников В.Д. Некоторые данные о влиянии дальневосточного лимонника на ЦНС / В.Д.Жестяников // Научные труды 3-й год студенты Военно-морской медицинской школы. – 1945. – № 3. – С 24–29.
38. Зеленская К.Л. Девясил высокий – адаптоген и антигипоксант / К.Л. Зеленская, В.Г. Пашинский, Т.Н Поветьева, Ю.В. Нестерова // Томск, 2004. – 204 с.
39. Зеленская К.Л. Антиоксидантное действие спиртовых извлечений из *Inula helenium (Asteraceae)* / К.Л. Зеленская, Т.Н. Поветьева, В.Г. Пашинский, Ю.В. Нестерова, Д.А. Климентова // Растительные ресурсы. – 2006. – Т.42, вып. 6. – С. 141–145.
40. Емельянов С.А. Влияние экстракта из листа бадана толстолистного на процессы обучения и памяти у мышей / С.А. Емельянов, Н.И. Суслов, В.Г. Пашинский // Актуальные проблемы фармакологии и поиска новых лекарственных препаратов. – Томск, 1992. – Т. 5. – С. 101–103.
41. Ивановский А.А. Экдистероиды и их роль в живой природе (обзор) / А.А. Ивановский, Е.Ю. Тимкина, З.К. Перминова, Н.П. Тимофеев // Аграрная наука Евро-Северо-Востока. – 2009. – № 4. – С. 57–61.
42. Ильина Т.С. Лекарственные растения: Большая иллюстрированная энциклопедия / Т.С. Ильина. – М., 2014. – 137 с.
43. Камышников В.С. Клиническая лабораторная диагностика (методы и трактовка лабораторных исследований) / В.С. Камышникова. – М., 2015. – 720 с.
44. Клебанов Г.И. Ингибирование антиокислительной активности плазмы крови азидом натрия / Г.И. Клебанов, Ю.О. Теселкин, Ю.А. Владимиров // Биофизика. – 1988. – Т.33, № 3. – С. 512–516.

45. Королюк М.А. Метод определения активности каталазы / М.А. Королюк, Л.И. Иванова, И.Г. Майорова, В.Е. Токарев // Лабараторное дело. – 1988. – № 1. – С. 16–19.
46. Кораблев М.В. Противогипоксические средства / М. В. Кораблев, П. И. Лукиенко. – Минск, 1976. – 128 с.
47. Колб В.Г. Клиническая биохимия / В.Г. Колб, В.С. Камышников. – Минск, 1976. – 231 с.
48. Ковалев И.Е. Влияние эномеланина на гемолиз эритроцитов, вызываемый свободнорадикальными реакциями и другими факторами / И.Е. Ковалев, Н.П. Данилова, С.А. Андронати // Фармакология и токсикология. – 1986. – № 6. – С. 89–91.
49. Костюченков Ю.Ф. Влияние фармакологических средств на развитие гемической гипоксии / Ю.Ф. Костюченков, Н.Ф. Фаращук // Фармакология и токсикология. – 1982. – № 1. – С 76–79.
50. Красноборов И.М. Флора Сибири: в 14 т. Т. 13: Asteraceae (Compositae) / И.М. Красноборов, М.Н. Ломоносова, Н.Н. Тупицына. – Новосибирск, 1997. – 470 с.
51. Куркин В.А. Исследование номенклатуры адаптогенных лекарственных препаратов, представленных на фармацевтическом рынке Российской Федерации / В.А. Куркин, И.К. Петрухина, А.С. Акушская // Фундаментальные исследования. – 2014. – № 8. – С. 898–902.
52. Куприянов Р.В. Профессиональный стресс в деятельности специалиста социальной сферы: теория и практика / Р.В. Куприянов, Ю.М. Кузьмина. – Казань, 2009. – 131 с.
53. Куприянов Р.В. Стресс и аллостаз: проблемы, перспективы и взаимосвязь / Р.В. Куприянов, Р.И. Жданов // Журнал высшей нервной деятельности. – 2014. – Т. 64. – № 1. – С. 21–31.
54. Кьосев П.А. Лекарственные растения / П.А. Кьосев. – М., 2011. – 944 с.
55. Кумышева Л.А. Противовоспалительная и антибактериальная активность некоторых лекарственных растений и сборов – перспективных

мукозопротекторов / Л.А. Кумышева // Растительные ресурсы. – 2009. – Т. 45, вып. 1. – С. 126–137.

56. Лазарев Н.В. Состояние неспецифически повышенной сопротивляемости / Н.В. Лазарев, Е.И. Люблина, М.А. Розин // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 1959. – Т. 3, Вып. 4. – С. 16–21.
57. Лазарев Н.В. Эволюция фармакологии / Н.В. Лазарев. – Л.: ВММА, 1947. – 276 с.
58. Ламан Н. Шиповник – природный концентрат витаминов и антиоксидантов / Н. Ламан, Н. Копылова // Наука и инновации. –2017. – Т.10, № 176. – С. 45–49.
59. Лазарева Д.Н. Стимуляторы иммунитета / Д.Н. Лазарева, Е.К. Алехин. – М.,1985. – 256 с.
60. Лубсандоржиева П.Б. Бадан толстолистный. Серия «Лекарственные растения тибетской медицины» / П.Б. Лубсандоржиева. – Улан-Удэ: Изд-во БНЦ СО РАН, 2003. – 90 с.
61. Лукьянова Л.Д. Методические рекомендации по скринингу и доклиническому испытанию антигипоксических средств / Л.Д. Лукьянова. – М., 1989. – 12 с.
62. Малышев И.Ю. Стресс, адаптация и оксид азота / И.Ю. Малышев, Е.Б. Манухина // Биохимия. – 1998. – Т. 63, № 7. – С. 992–1006.
63. Макаров В.Г. Изучение антиоксидантной и антигипоксической активности экстрактов бадана толстолистного / В.Г. Макаров, М.Н. Макарова, А.Е. Александрова, А.И. Селезнева, С.В. Тесакова // Актуальные проблемы создания новых лекарственных препаратов природного происхождения. – СПб., 2005. – С. 94–102.
64. Макаренко Е.В. Комплексное определение активности супероксиддисмутазы и глутатионпероксидазы в эритроцитах у больных с хроническими заболеваниями печени / Е.В. Макаренко // Лабораторное дело. – 1988. – № 11. – С. 48–50.

65. Мамадалиева Н.З. Антипролиферативная, антимикробная и антиоксидантная активность химических составляющих *Ajuga turkestanica* / Н.З. Мамадалиева, М.З. Эль-Риди, Е. Овиди и др. // Фитофармакология. – 2013. – № 4 (1). – С. 1–18.

66. Меерсон Ф.З. Адаптационная медицина: механизмы и защитные эффекты адаптации / Ф.З. Меерсон. – М., 1993. – 345 с.

67. Меерсон Ф.З. Адаптация к стрессорным ситуациям и физическим нагрузкам / Ф.З. Меерсон, М.Г. Пшенникова. – М., 1988. – 256 с.

68. Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс: Патологические состояния и заболевания / Е.Б. Меньщикова, Н.К. Зенков, В.З. Ланкин, И.А. Бондарь, В.А. Труфакин. – Новосибирск: АРТА, 2008. – 284 с.

69. Морозов В.Н. К современной трактовке механизмов стресса / В.Н. Морозов, А.А. Хадарцев // Вестник новых медицинских технологий. – 2010. – Т. 17. – № 1. – С. 15–17.

70. Мунхжаргал Н. Поиск экдистероидсодержащих видов во флоре Монголии и Русского Алтая / Н. Мунхжаргал, Л.Н. Зибарева, Д. Оюнчимэг, А.И. Пяк // Вестник Томского государственного университета. – 2007. – № 305. – С. 192–196.

71. Нестерова Ю.В. Некоторые механизмы стресс-протекторного действия препаратов из *Inula helenium* / Ю.В. Нестерова, К.Л. Зеленская, Т.В. Ветошкина, С.Г. Аксиненко, А.В. Горбачева, Н.А. Горбатых // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2003. – Т.66, № 4. – С. 63–65.

72. Нестерова Ю.В. Влияние вытяжек из *Inula helenium* и *Taraxacum officinale (Asteraceae)* на течение острой и повторной гипоксии / Ю.В. Нестерова, К.Л. Зеленская, С.Г. Аксиненко, В.Г. Пашинский // Растительные ресурсы. – 2005. – Т. 41, вып. 1. – С. 117–121.

73. Николаев С.М. Многокомпонентные лекарственные средства традиционной медицины как регулирующие фармакологические системы / С.М. Николаев // Байкальские чтения. – СПб., 2008. – С. 140–142.

74. Николаев С.М. Фитотерапия и фитопрофилактика заболеваний / С.М. Николаев. – Улан-Удэ, 2012. – 286 с.

75. Николаева Г.Г. Способ получения средства, обладающего антигипоксической активностью / Г.Г. Николаева, Б.А. Муруев, А.Г. Мондодоев и др. // Патент №0002669365; заявл. 13.06.2017; опубл. 13.10.2018, бюлл. № 29.

76. Николаева Г.Г. Левзея одноцветковая и серпуха васильковая перспективные экдистероидсодержащие растения / Г.Г. Николаева, Л.Н. Шантанова, И.Г. Николаева, Л.Д. Раднаева, Л.Л. Гармаева, Л.П. Цыбиктарова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2014. – № 3 (97). – С. 93–98.

77. Новосёлов В.Г.Сравнительная оценка иммуномодулирующих свойств некоторых видов растительного пищевого сырья / В.Г. Новосёлов, С.Г. Глумов, Л.Г. Щёлокова // Традиционная медицина и питание. Теоретические и практические аспекты. – М., 1994. – С. 191–192

78. Оленников Д.Н. Химический состав сока каллизии душистой (*Callisia fragrans* Wood) и его антиоксидантная активность (*in vitro*) / Д.Н. Оленников // Химия растительного сырья. – 2008. – № 4. – С. 95–100.

79. Оленников Д.Н. Методика количественного определения суммарного содержания полифруктанов в корневищах и корнях девясила высокого (*Inula helenium* L.) / Д.Н. Оленников, Л.М. Танхаева, Г.В. Чехирова, Е.В. Петров // Химия растительного сырья.– 2008.– № 1. – С. 95–99.

80. Петров Е.В. Теоретические предпосылки разработки рецептур многокомпонентных фитопрепаратов на основе опыта традиционной медицины / Е.В. Петров, Т.А. Асеева, Г.В. Чехирова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2009.–№ 6 (67). – С. 222–224.

81. Попов П.Л. Виды растений, применявшихся при вирусных болезнях человека и животных: закономерности распределения в филогенетической классификационной системе / П.Л. Попов // Журнал стресс-физиологии и биохимии. – 2008. – Т. 4, № 34. – С. 17–64.

82. Порядин Г.В. Стресс и патология / Г.В. Порядин – М.: РГМУ, 2009. – 23 с.
83. Поветьева Т.Н. Механизмы адаптогенного действия лекарственных растений Сибири: автореф. дис. … доктора биологических наук / Т.Н. Поветьева. – Томск, 2002. – 32 с.
84. Пчеленко Л.Д. Адаптогенный эффект экдистероидсодержащей фракции *Serratula coronate* L. / Л.Д. Пчеленко, Л.Г. Метелкина, С.О. Володина // Химия растительного сырья. – 2002. – № 1. – С. 69–80.
85. Пшенникова М.Г. Феномен стресса. Эмоциональный стресс и его роль в патологии / М.Г. Пшенникова // Патологическая физиология и экспериментальная терапия. – 2001. – № 1. – С. 29–31.
86. Раднаева Д.Б. Фармакологические свойства и механизм действия адаптогенного средства «Сок каллизии душистой»: дис. … канд. мед. наук / Д.Б. Раднаева. – Улан-Удэ, 2009. – 124 с.
87. Регистр России, 2012 / Государственный реестр лекарственных средств Министерства здравоохранения и социального развития Российской Федерации. – Режим доступа: https://grls.rosminzdrav.ru/
88. Саратиков А. С. Родиола розовая (Золотой корень) / А.С. Саратиков, Е.А. Краснов. – Томск, 2004. – 286 с.
89. Свиридов И.В. Адаптогенные свойства экстракта сухого *Serratula centauroides* L. : дис. …канд. мед. наук / И.В. Свиридов. – Улан-Удэ., 2016. – 125с.
90. Свиридов И.В. Иммунокорригирующее действие сухого экстракта серпухи васильковой / И.В. Свиридов, В.Б. Хобракова, Л.Н. Шантанова // Сибирский медицинский журнал. – 2015.– № 5. – С. 120–122.
91. Селье Г. Очерки об адаптационном синдроме / Г. Селье. – М.: Медгиз, 1960. – 254с.
92. Селье Г. Стресс без дистресса / Г. Селье. – М.: «Прогресс», 1982. – 127 с.
93. Сергиенко В.И. Математическая статистика в клиничеких исследованиях / В.И. Сергиенко, И.Б. Бондарева. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2006. – 304 с.

94. Смирнов А.В. Морфологические изменения в вентральных отделах гиппокампа взрослых крыс при длительном воздействии комбинированного стресса / А.В. Смирнов, М.В. Шмидт, М.Р. Экова, Д.С. Медников, Д.Д. Бородин, И.Н. Тюренков // Волгоградский научно-медицинский журнал. – 2013. – Т. 40. – № 4. – С. 14–16.

95. Соколов П.Д. Растительные ресурсы СССР: Цветковые растения, их химический состав, использование. Т.7. Сем. Asteraceae / П.Д. Соколов. – СПб.: Наука, 1993. – 352 с.

96. Стальная И.Д. Метод определения малонового диальдегида с помощью тиобарбитуровой кислоты / И.Д. Стальная, Т.Г. Гаришвили // Современные методы в биохимии. – М., 1977. – С. 66–68.

97. Судаков К.В. Индивидуальная устойчивость к эмоциональному стрессу / К.В. Судаков. – М., 1998. – 267 с.

98. Сидоров К.К. Методы определения острой токсичности и опасности химических веществ (Токсикология) / К.К. Сидоров. — М.: Медицина, 1970. – 171 с.

99. Тимофеев Н.П. Левзея сафлоровидная: Проблемы интродукции и перспективы использования в качестве биологически активных добавок // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты. – М., 2001. – № 5. – С. 108–134.

100. Тимофеев Н.П. Достижения и проблемы в области изучения, использования и прогнозирования биологической активности экдистероидов. Обзор / Н.П. Тимофеев // Бутлеровские сообщения. – 2006. – Т. 8,№ 2. – С. 7–34.

101. Тимофеев Н.П. Промышленные источники получения экдистероидов. Часть I. *Ponasterone u muristerone* // Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты. – М., РАЕН, 2003. – № 9. – С. 64–86.

102. Тимофеев Н.П. Промышленные источники получения эксдистероидов. Часть II. *Ecdysterone*: Растения рода *Rhaponticum* (обзор) / Н.П. Тимофеев

// Нетрадиционные природные ресурсы, инновационные технологии и продукты. – М.,2007. – С. 8–49.

103. Тимофеев Н.П. Исследование по экдистероидам: использование в медицине, интернет-ресурсы, источники и биологическая активность / Н.П. Тимофеев // Биомедицинская химия. – 2004. – Т. 50, № 1. – С. 133–152.

104. Трудолюбова М. Г. Количественное определение РНК и ДНК в субклеточных фракциях клеток животных / М. Г. Трудолюбова // Современные методы в биохимии под ред. проф. В.Н. Ореховича. – М., Медицина, 1977. – 392 с.

105. Турищев С.Н. Современная фитотерапия / С.Н. Турищев. – М., 2007. – 448 с.

106. Федосеева Л.М. Фитохимический анализ листьев бадана толстолистного, произрастающего на Алтае // Актуальные вопросы фармации на современном этапе. – Новосибирск, 1998. – С. 49–50.

107. Хаитов Р.М. Методические рекомендации по доклиническому изучению иммунотропной активности лекарственных средств / Р.М. Хаитов, И.Г. Гущин, Б.В. Пинегин, А.А. Ярилин, А.Н. Миронов, В.А.,Меркулов, Е.В. Кожинова // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть I / под ред. А.Н. Миронова. – Москва, 2012. – С. 630– 631.

108. Хаитов Р.М. Методические рекомендации по оценке иммунотоксического действия лекарственных средств / Р.М. Хаитов, А.С. Иванова, Л.П.Коваленко и др. // Руководство по проведению доклинических исследований лекарственных средств. Часть I / под ред. А.Н. Миронова. – Москва, 2012. – С. 73.

109. Цыбиктарова Л.П. Микроэлементный состав серпухи васильковой *(Serratula centauroides* L.) / Л.П. Цыбиктарова, Г.Г. Николаева, И.Г. Николаева, Л.Л. Гармаева // Вестник Бурятского государственного университета. – 2014. – Вып. 12. – С. 136–138.

110. Цыбиктарова Л.П. Фармакогностическое исследование *Serratula centauroides* L. и разработка лекарственного средства на ее основе, обладающего адаптагенной активностью: автореф. дис. … канд. фарм. наук / Л.П.Цыбиктарова. – Улан-Удэ, 2016. – 20с.

111. Цыдендамбаев П.Б. Действие экстрактов лекарственных трав Забайкалья на систему комплемента человека / П.Б. Цыдендамбаев, Л.П. Никитина, А.Ц. Гомбоева, Н.В. Соловьева, Н.Н.Коцюржинская // Биотехнология: состояние и перспективы развития. – М., 2007. – С. 145.

112. Цыренжапова О.Д. Перспективы использования сырья природного происхождения для получения адаптогенных средств / О.Д. Цыренжапова, Г.Я. Брызгалов, П.Б. Лубсандоржиева // Традиционная медицина и питание. Теоретические и практические аспекты. – М.,1994. – С. 216–217.

113. Чадин И.Ф. Распределение 20-гидроксиэкдизона в генеративных растениях *Serratula coronata* L. / И.Ф. Чадин, Н.А. Колегова, В.В. Володин // Сибирский экологический журнал. – 2003. – № 1. – С. 49–53.

114. Чевари С. Роль супероксиддисмутазы в окислительных процессах клетки и метод определения ее в биологических материалах / С. Чевари, И. Чаба, Й. Секей // Лабораторное дело. – 1985. – № 11. – С. 678–681.

115. Чурин А.А. Влияние экстракта *Bergenia crassifolia* на показатели специфического иммунного ответа в условиях экстремальных воздействий / А.А. Чурин, Н.В. Масная, Е.Ю. Шерстобоев, Н.И. Суслов // Экспериментальная и клиническая фармакология. – 2005. –Т. 68, № 5. – С. 51–54.

116. Шабанов П.Д. Гипоксия и антигипоксанты / П.Д. Шабанов // Вестник Российской Военно-медицинской академии. – 2003. – № 1 (9). – С. 111–121.

117. Шантанова Л.Н. Адаптогены в тибетской медицине / Л.Н. Шантанова, Д.Б. Дашиев, Д.Б. Раднаева, Т.Г. Петрова // Бюллетень ВСНЦ СО РАМН. – 2008. – № 3. – С. 175–178.

118. Шантанова Л.Н. Противовоспалительные и антиоксидантные свойства сухого экстракта из черных листьев *Bergenia crassifolia (Saxifragaceae)* / Л.Н. Шантанова, П.Б. Лубсандоржиева, А.В. Бодоев, С.М. Николаев // Растительные ресурсы. – 2008. – Т. 44, № 3. – С. 109–117.

119. Шахмурова Г.А. Влияние общего препарата экдистероидов из *Silene viridiflora* на иммунное состояние экспериментальных животных в условиях нормального и вторичного иммунодефицита / Г.А. Шахмурова, Н.З. Мамадалиева, А.А. Жанибеков и др. // Химико-фармацевтический журнал. – 2012. – N 46. – P. 222–224.

120. Шилова И.В. Антиоксидантные свойства экстрактов листьев бадана толстолистного / И.В. Шилова, С.И. Писарева, Е.А. Краснов, М.А. Бружес, А.И. Пяк // Химико-фармацевтический журнал. – 2006. – Т. 40, № 11. – С. 39–42.

121. Шилова И.В. Химико-фармакологическое исследование листьев бадана толстолистного / И.В. Шилова // Наука о человеке. – 2008. – С. 117–118.

122. Шнайдман Л.О. Идентификация флавоновых и катехиновых веществ плодов шиповника / Л.О. Шнайдман, И.Н. Кущинская // Медицинская промышленность СССР. – 1965. – Т. 19, № 2. – С. 14 –17.

123. Щулькин А.В. Современные представления о фармакодинамике экдистероидов / А.В. Щулькин, Е.Н. Якушева, В.В. Давыдов, В.Н. Дармограй // Российский медико-биологический вестник имени академика И.П. Павлова. – 2012. – № 4. – С. 164–169.

124. Юматов Е.А. Сравнительный анализ устойчивости функций сердечно-сосудистой системы у крыс разных линий при иммобилизации / Е.А. Юматов, Ю.Г. Скоцеляс // Журнал высшей нервной деятельности. – 1979. – № 2. – С. 345 – 350.

125. Яременко К.В. Учение Н.В. Лазарева о СНПС и адаптогенах как базовая теория профилактической медицины / К.В. Яременко // Психофармакология и биологическая наркология. – 2005. – Т. 5, вып. 4. – С. 108.

126. Яременко К.В. Адаптогены в фитотерапии / I Российский фитотерапевтический съезд: сборник научных трудов. – М., 2008. – С. 363–364.

127. Яременко К.В. Злокачественные опухоли. Лечение и лекарственная профилактика / К.В. Яременко, В.Г. Пашинский. – СПб, 2003. – 168 с.

128. Яременко К.В. Природные средства против рака / К.В. Яременко. – СПб, 2007. – 111 с.

129. Adesanwo J.K. Phytochemical analysis and antioxidant activity of methanol extract and betulinic acid isolated from the roots of *Tetracera potatoria* / J.K. Adesanwo, O.O. Makinde, C.A. Obafemi // Journal of Pharmacy Research. – 2013. – Vol. 6, N 9. – P. 903–907.

130. Akar F.G. The mitochondrial origin of postischemic arrhythmias / F.G. Akar, M.A. Aon, G.F. Tomaselli, B. O'Rourke // Journal of Clinical Investigations. – 2005. – Vol. 115. – P. 3527–3535.

131. Akerboom T.P.M. Assay of glutathione, glutathione disulfide, and glutathione mixed disulfides in biological samples / T.P.M. Akerboom, H. Sies // Methods in Enzymology – 1981. – Vol.77. – P. 373–382.

132. Banasr M. Chronic unpredictable stress decreases cell proliferation in the cerebral cortex of the adult / M. Banasr, G.W. Valentine, X.Y. Li, S.L. Gourley, J.R. Taylor, R.S. Duman // Biol. Psychiatry. – 2007. – Vol. 62, N 5. – P. 496–504.

133. Bers D.M. Altered cardiac myocyte Ca regulation in heart failure. / D.M. Bers // Physiology (Bethesda). – 2006. – Vol. 21, N 6. – P. 380–387.

134. Boo K.H. Distribution and biosynthesis of 20-hydroxyecdysone in plants of Achyranthes japonica Nakai / K.H. Boo, D. Lee, G.L. Jeon, S.H. Ko, S.K Cho, J.H. Kim, S.P. Park, Q. Hong, S.H. Lee, D.S. Lee, K.Z. Riu // Biosci. Biotechnol. Biochem.– 2010. – Vol. 74, N 11. – P. 2226–2231.

135. Bathori M. Phytoecdysteroids and anabolic-androgenic steroids structure and effects on humans / M. Bathori, N. Toth., A Hunyadi et al. // Curr. Med. Chem. – 2008. – V. 15, N 1. – P. 75–91.

136. Blagojevic P.D. Conformational analysis of antistaphylococcal sesquterpene lastones from Inula helenium essential oil / P.D. Blagojevic, N.S. Radulovic // Nat.Prod. Commun. – 2012. – Vol. 7, N 11. – P. 1407–1410.

137. Bradford M.M. A Rapid and Sensitive Method for the Quantitation of Microgram Quantities of Protein Utilizing the Principle of Protein-Dye Binding / M.M. Bradford // Anal. Biochem. – 1976. – Vol. 72. – P. 248–254.

138. Cannon W.B. Bodily changes in pain, hunger, fear and rage; an account of recent researches into the function of emotional excitement / W.B. Cannon. – New York, London, 1929.

139. Czéh B. Chronic social stress inhibits cell proliferation in the adult medial prefrontal cortex: hemispheric asymmetry and reversal by fluoxetine treatment / B. Czéh, J.I. Müller-Keuker, R. Rygula, N. Abumaria, C. Hiemke, E. Domenici, E. Fuchs // Neuropsychopharmacology. – 2007. – Vol. 32, N 7. – P. 1490–1503.

140. Catania C. The amyloidogenic potential and behavioral correlates of stress / C. Catania, I. Sotiropoulos, R. Silva, C. Onofri, K.C. Breen, N. Sousa, O.F. Almeida // Mol. Psychiatry. – 2009. – Vol. 14. – P. 95–105.

141. Cullinan W.E. Functional role of local GABAergic influences on the HPA axis / W.E Cullinan, D.R Ziegler, J.P. Herman // Brain Struct. Funct. – 2008. – Vol. 213. – P. 63–72.

142. Cheng D.M. Continuous infusion of 20-hydroxyecdysone increased mass of triceps brachii in C57BL/6 mice / D.M. Cheng, L.W. Kutzler, D.D. Boler, J. Drnevich, J. Killefer, M.A. Lila // Phytother. Res. – 2013. – Vol. 27, N 1. – P. 107–111.

143. Cunningham A.J. A method of increased sensitivity for detecting single antibodyforming cells / A.J Cunningham // Nature. – 1965. – Vol. 207, N 5001. – P.1106–1107.

144. Cappiello M. Rapid colorimetric determination of reduced and oxidized gluthatione using an end point coupled enzymatic assay / M. Cappiello, E.

Peroni, A. Lepore, R. Moschini et al. // Analytical and Bioanalytical Chemistry. – 2013. – Vol. 405, N 5. – P. 1779–1785.

145. Dallman M.F. Modulation of stress responses: how we cope with excess glucocorticoids / M.F. Dallman // Exp. Neurol. – 2007. – Vol. 206. – P. 179–182.

146. Decavel C. GABA: a dominant neurotransmitter in the hypothalamus / C. Decavel, A. N. van den Pol // J. Comp. Neurol. – 1990. – Vol. 302, N 4. – P. 1019–1037.

147. Dirksen R. Mechanism of nalaxone therapy in the treatment of shock: a hypothesis / R. Dirksen, G Wood, G Nijhuis // Lancet. – 1981. – Vol. 1, N 8220. – P. 607–608.

148. Dinan L. Effects and applications of arthropod steroid hormones (ecdysteroids) in mammals / L. Dinan, R.J. Lafont // Endocrinol. – 2006. – Vol. 191. – P. 1–8.

149. Dinan L. On the distribution of phytoecdysteroids in plants / L. Dinan, T. Savchenko, P. Whiting // Celluar and Molecular Life Sci. – 2001. – Vol. 58, N 8. – P. 1121–1132.

150. Deriu A. Antimicrobial activity of *Inula helenium* L. essential oil against Gram-positive and Gram-negative bacteria and *Candida spp*. / A. Deriu, S. Zanetti, L.A. Sechi, B. Marongiu, A. Piras, S. Porcedda, E. Tuveri // Int J. Antimicrob Agents. – 2008. – Vol. 31, N 6. – P. 588–590.

151. Franck E. Evolutionary diversity of vertebrate small heat shock proteins / E. Franck, O. Madsen, T. van Rheede, G. Ricard, M.A. Huynen, W.W. De Jong // J. Mol. Evol. – 2004. – Vol. 59, N 6. – P. 792–805.

152. Festucci-Buselli R.A. Biosynthesis and potential functions of the ecdysteroid 20-hydroxyecdysone – a review / R.A. Festucci-Buselli, L.S.A. Contim, L.C.A. Barbosa, J. Stuart, W.C. Otoni // Botany. – 2008. – Vol. 86, P. 978–987.

153. Guillemin R. Beta-Endorphin and adrenocorticotropin are secreted concomitantly by the pituitary gland / R. Guillemin, T. Varge, J. Rossier et al. // Science. – 1977. – Vol. 197, N 4311. – P. 1367–1369.

154. Graf B.L. Quinoa seeds leach phytoecdysteroids and other compounds with anti-diabetic properties / B.L. Graf, A. Poulev, P. Kuhn et al. // Food Chem. – 2014. – Vol. 163. – P. 178–185.

155. Gorelick-Feldman J. Phytoecdysteroids increase protein synthesis in skeletal muscle cells / J. Gorelick-Feldman, D. MacLean, N. Ilic, A. Poulev, M.A. Lila, D. Cheng, I Raskin // J. Agric. Food Chem. – 2008. Vol. 56, N 10. – P. 3532–3537.

156. Guo C.Y. Orthogonal test design for optimizing the extraction of total flavonoids from *Inula helenium* / C.Y. Guo, J. Wang, Y. Hou, Y.M. Zhao, L.X. Shen, D.S. Zhang // Pharmacogn. Mag. – 2013. – Vol. 9, N. 35. – P. 192-195.

157. Herman J.P. Regulation of the Hypothalamic-Pituitary-Adrenocortical Stress Response / J.P. Herman, J.M. McKIveen, S. Ghosal, B. Kopp, A. Wulsin, R. Makinson, J. Scheimann, B. Myers // Compr. Physiol. – 2016. – Vol.6, N 2. – P 603–621.

158. Herman J.P. Central mechanisms of stress integration: hierarchical circuitry controlling hypothalamo-pituitary-adrenocortical responsiveness / J.P. Herman // Front. Neuroendocrinol. – 2003. – Vol. 24, N 3. – P. 151–180.

159. Herman J.P. Role of GABA and glutamate circuitry in hypothalamo-pituitary-adrenocortical stress integration / J.P. Herman, N.K. Mueller, H. Figueiredo // Ann. N.Y. Acad. Sci. – 2004. – Vol. 1018. – P. 35–45.

160. Hansen K. Ponasterone A and F, Ecdysteroids from the Arctic Bryozoan Alcyonidium gelatinosum / K. Hansen, J. Isaksson, J. Glomsaker, J.H. Andersen, E. Hansen // Molecules. – 2018. – Vol. 23, N 6. – P. 1481.

161. Ho L.J. Differential immunomodulatory effects by Tripterygium wilfordii Hook f-derived refined extract PG27 and its purified component PG490 (triptolide) in human peripheral blood T cells: potential therapeutics for arthritis and possible mechanisms explaining in part Chinese herbal theory "Junn-Chenn-Zuou-SS" / L.J. Ho, W.L. Chang, A. Chen, P. Chao, J.H. Lai // J. Transl. Med. – 2013. – Vol. 11. – P. 294.

162. Horwitz J. Alpha-crystallin can function as a molecular chaperone / J. Horwitz // Proc. Natl. Acad. Sci. U. S. A. – 1992. – Vol. 89. – P. 10449–10453.

163. Hung S.K. The effectiveness and efficacy of *Rhodiola rosea* L.: A systematic review of randomized clinical trials / S.K. Hung, R. Perry, E. Ernst // Phytomedicine. – 2011. – Vol. 18, N 4. – P. 235–244.

164. Jenks B.G. Regulation of proopiomelanocortin gene expression: an overview of the signaling cascades, transcription factors, and responsive elements involved / B.G. Jenks // Ann. N Y Acad. Sci. – 2009. – Vol. 1163. – P. 17–30.

165. Joëls M. Unraveling the time domains of corticosteroid hormone influences on brain activity: rapid, slow, and chronic modes / M. Joëls, R.A. Sarabdjitsingh, H. Karst // Pharmacol Rev. – 2012. – Vol. 64, N 4. – P. 901–938.

166. Jeong Y.H. Chronic stress accelerates learning and memory impairments and increases amyloid deposition in APPV717I-CT100 transgenic mice, an Alzheimer's disease model / Y.H. Jeong, C.H. Park, J. Yoo, K.Y. Shin, S.M. Ahn, H.S. Kim, S.H. Lee, P.C. Emson, Y.H. Suh // FASEB J. – 2006. – Vol. 20, N 6. – P. 729–731.

167. Jones S.A. The pregnane X receptor : a promiscuous xenobiotic receptor that has diverged during evolution / S.A. Jones, L.B. Moore, J.L. Shenk, G.B. Wisely, G.A. Hamilton, D.D. McKee, A.C.O. Tomlinson, E.L. LeCluyse, M.H. Lamberft, T.M. Wilson, S.A. Kliewer, J.T. Moore // Molecular Endocrinology. – 2000. – Vol. 14, N 1. – P. 27–39.

168. Jiao R. The Anti-Oxidant and Antitumor Properties of Plant Polysaccharides / R. Jiao, Y. Liu, H. Gao et al. // Am. J. Chin. Med. – 2016. – V. 44, N. 3. – P. 463–488.

169. Kappé G. The human genome encodes 10 alpha-crystallin-related small heat shock proteins: HspB1-10 / G. Kappé, E. Franck, P. Verschuure, W.C. Boelens, J.A. Leunissen, W.W. de Jong // Cell Stress Chaperones. – 2003. – Vol. 8. – P. 53–61.

170. Korte S.M. The Darwinian concept of stress: benefits of allostasis and costs of allostatic load and the tradeoffs in health and disease / S.M Korte, J.M

Koolhaas, J.C. Wingfield, B.S McEwen // Neurosci.Biobehav.Rev. – 2005. Vol. 29, – N 1. – P. 3–38.

171. Kapoor A. Fetal programming of hypothalamo-pituitary-adrenal function: prenatal stress and glucocorticoids / A. Kapoor, E. Dunn., A. Kostaki, M.H Andrews, S.G. Matthews // Journal of Physiology. – 2006. – Vol. 572, N 1. – P. 31–44.

172. Koolhaas J.M. Stress revisited: a critical evaluation of the stress concept / J.M Koolhaas, A. Bartolomucci, B. Buwalda, S.F. de Boer et al. // Neurosci. Biobehav. Rev. – 2011. – Vol. 35, N 5. – P. 1291–1301.

173. Lederbogen F. City living and urban upbringing affect neural social stress processing in humans / F. Lederbogen, P. Kirsch, L. Haddad, F. Streit, H. Tost // Nature. – 2011. – Vol. 474, N 7352. – P. 498–501.

174. Lucassen P.J. Neuropathology of stress / P.J Lucassen, J. Pruessner, N. Sousa et al. // Acta Neuropathologica. – 2014. – Vol. 127, N 1. – P. 109–135.

175. Lewis J. Adrenal-medullary enkephalinelike peptides may mediate opioid stress analgesia / J. Lewis, M. Tordoff, J. Sherman, J.C. Liebeski // Science. – 1982. – Vol. 217, – N 4550. – P. 557–559.

176. Liao L.Y. A preliminary review of studies on adaptogens: comparison of their bioactivity in TCM with that of ginseng-like herbs used worldwide / L.Y. Liao, Y.F. He, L. Li, H. Meng, Y.M. Dong, F. Yi, P.G. Xiao // Chin. Med. – 2018. – Vol. 13 (57). – P. 57.

177. Lafont R. Ecdysteroid Chemistry and Biochemistry / R. Lafont, C. Dauphin-Villemant, J.T. Warren, H.H. Rees // Reference Module in Life Sciences. Elsevier; New York, NY, USA, 2017. – P. 125–195.

178. Lafont R. Practical uses for ecdysteroids in mammals including humans: an update / R Lafont, L. Dinan // Journal of Insect Science. – 2003. – Vol. 2, N 7. – P. 1–30.

179. Li Y. Antitumour activities of sesquiterpene lactones from Inula helenium and Inula japonica / Y. Li, Z.Y. Ni, M.C. Zhu et al. // Naturforsch. – 2012. – Vol. 67, N 7-8. – P. 375–380.

180. McEwen B.S. The concept of allostasis in biology and biomedicine / B.S. McEwen, J.C. Wingfield // Horm.Behav. – 2003. – Vol. 43. – P. 2–15.

181. McEwen B.S. Protective and Damaging Effects of Stress Mediators / B.S. McEwen // Dialoques Clin Neurosci. – 2006. – Vol. 8, N 4. – P. 367–381.

182. McEwen B.S. Central role of the brain in stress and adaptation: Links to socioeconomic status, health, and disease / B.S. McEwen, P.J. Gianaros // Ann. NY Acad. Sci. – 2010. – Vol. 1186. – P. 190–222.

183. McEwen B.S. Stress, sex, and neural adaptation to a changing environment: mechanisms of neuronal remodeling / B.S. McEwen // Ann. NY Acad. Sci. – 2010. – Vol. 1204 (Suppl). – P. 38–59.

184. McEwen B.S. Recognizing resilience: Learning from the effects of stress on the brain / B.S. McEwen, J.D. Gray, C. Nasca // Neurobiology of Stress. – 2015. – Vol. 1. – P. 1–11.

185. Myers B. Glucocorticoid actions on synapses, circuits, and behavior: implications for the energetics of stress / B. Myers, J.M. McKlveen, J.P. Herman // Front Neuroendocrinol. – 2014. – Vol. 35. – P. 180–196.

186. Myers B. Neural Regulation of the Stress Response: The Many Faces of Feedback / B. Myers, J.M. McKlveen, J.P. Herman // Cell. Mol. Neurobiol. – 2012. – Vol. 352. – P. 683–696.

187. Miklos I. H. GABAergic innervation of corticotropin-releasing hormone (CRH)-secreting parvocellular neurons and its plasticity as demonstrated by quantitative immunoelectron microscopy / I.H. Miklos, K.J. Kovacs // Neuroscience. – 2002. – Vol. 113, N 3. – P. 581–592.

188. Marques de S.L. GABAergic mediation of stress-induced secretion of corticosterone and oxytocin, but not prolactin, by the hypothalamic paraventricular nucleus / Marques de S.L., C.R. Franci // Life Sci. – 2008. – Vol. 83, N 19-20. – P. 686–692.

189. Numakava T. Actions of Brain-Derived NeurotrophicFactor and Glucocorticoid Stress in Neurogenesis / T, Numakava, H. Odaka, N. Adachi // Int. J. Mol. Sci. – 2017. – Vol. 18, N 11. – P. 2–45.

190. Nade V.S. Adaptogenic effect of Morus alba on chronic footshock-induced stress in rats / V.S. Nade, L.A. Kawale, R.A. Naik, A.V. Yadav // Indian. J. Pharmacol. – 2009. – Vol. 41, N 6. – P. 246-251.

191. Nsimba R.Y. Ecdysteroids act as inhibitors of calf skin collagenase and oxidative stress / R.Y. Nsimba, H. Kikuzaki, Y. Konishi // J. Biochem. Mol. Toxicology. – 2008. – Vol. 22, N 4. – P. 240–250.

192. Ong W.Y. Protective effects of ginseng on neurological disorders / W.Y. Ong, T. Farooqui, H.L. Koh et al. // Front. Aging Neurosci. – 2015. – V. 16, N. 7. – P. 119–129.

193. O'Shea S. *In vitro* activity of *Inula helenium* against clinical *Staphylococcus aureus* strains including MRSA / S. O'Shea, B. Lucey, L. Cotter // Br. J. Biomed. Sci. – 2009. – Vol. 66, N 4. – P. 186–189.

194. Olennikov D.N. *Lamiaceae carbohydrates*. I. Pectinic substances and hemicelluloses from *Mentha x piperita* / D.N. Olennikov, L.M. Tankhaeva // Chem. Nat. Compd. – 2007. – Vol. 43, N 5. – P. 501–507.

195. Olennikov D.N. Phenylpropanoids from subterranean organs of *Inula helenium* / D.N. Olennikov, L.M. Tankhaeva // Chem. Nat. Compd. – 2012. – Vol. 48, N 2. – P. 317–318.

196. Oktyabrsky O. Assessment of anti-oxidant activity of plant extracts using microbial test systems/ O. Oktyabrsky, G. Vysochina, N. Muzyka et al. // J. Appl. Microbiol. – 2009. – Vol. 106, N 4. – P. – 1175–1783.

197. Panossian A. Effects of adaptogens on the central nervous system and the molecular mechanisms associated with their stress-protective activity / A.Panossian, G. Wikman // Pharmaceuticals. – 2010. – Vol. 3, N 1. – P. 188–224.

198. Panossian A. The Adaptogens Rhodiola and Schizandra Modify the Response to Immobilization Stress in Rabbits by Suppressing the Increase of Phosphorylated Stress–activated Protein Kinase, Nitric Oxide and Cortisol / A. Panossian, M. Hambartsumyan, A. Hovanissian et al. // Drug Targets Insights. – 2007. – Vol. 2. – P. 39–54.

199. Panossian A. Adaptogens exert a stress protective effect by modulation of expression of molecular chaperons / A. Panossian, G. Wikman, P. Kaur, A. Asea // Phytomedicine. – 2009. – Vol. 16 (6-7). – P. 617–622.

200. Panossian A. Plant adaptogens III. Earlier and more recent aspects and concepts on their mode of action / A. Panossian, G. Wikman, H. Wagner // Phytomedicine. – 1999. – Vol. 6, N 4. – P. 287–300.

201. Panossian A. Understanding adaptogenic activity: specificity of the pharmacological action of adaptogens and other phytochemicals / A. Panossian // Ann N Y Acad. Sci. – 2017. – Vol. 1401, N 1. – P. 49-64.

202. Panossian A. Evidence-based efficacy of adaptogens in fatigue, and molecular mechanisms related to their stress-protective activity / A. Panossian, G. Wikman // Current Clin.Pharmacol. – 2009. – Vol. 4. – P. 198–219.

203. Panossian A. Pharmacology of *Schisandra chinensis* Bail.: An overview of Russian research and uses in medicine / A. Panossian, G. Wikman // Journal of Ethnopharmacology. – 2008. – Vol. 118, N 2. – P. 183–212.

204. Parr M.K. Estrogen receptor beta is involved in skeletal muscle hypertrophy induced by the phytoecdysteroid ecdysterone / M.K. Parr, P. Zhao, O. Haupt et al. // Mol. Nutr. Food Res. – 2014. – Vol. 58, N 9. – P. 1861–1872.

205. Papp M. An animal model of anhedonia: attenuation of sucrose consumption and place preference conditioning by chronic unpredictable mild stress / M. Papp, P. Willner, R. Muscat / Psychopharmacology. – 1991. – Vol. 104, N 2. – P. 255–259.

206. Perfumi M. Adaptogenic and central nervous system effects of single doses of 3% rosavin and 1% salidroside *Rhodiola rosea* L. extract in mice / M. Perfumi, L. Mattioli // Phytotherapy Research. – 2007. – Vol. 21, N 1. – P. 37–43.

207. Porsolt R.D. Behavioural despair in rats: A new model sensitive to antidepressant treatments / R.D. Porsolt, G. Anton, N. Blavet, M. Jalfre // Eur. J. Pharmacol. – 1978. – Vol. 47, N 4. – P. 379–391.

208. Pozharitskaya O. Separation and evaluation of free radical-scavenging activity of phenol components of green, brown, and black leaves of *Bergenia crassifolia*

by using HPTLC-DPPH method / O. Pozharitskaya, S. Ivanova, A. Shikov, V. Makarov, B. Galambosi // J. Sep. Sci. – 2007. – Vol. 30, N 15. – P. 2447–2451.

209. Rahini D. *In vitro* antioxidant activity of *Artabotrys hexapetallus* / D. Rahini, R. Anuradha // Research Journal of Pharmaceutical, Biological and Chemical Sciences. – 2014. – Vol. 5, N 2. – P. 396–405.
210. Repka T. Hydroxyl radical formation by sickle erythrocyte membranes: role of pathologic iron deposits and cytoplasmic reducing agents / T. Repka, R.P. Hebbel // Blood. – 1991. – Vol. 78, N. 10. – P. 2753–2758.
211. Shaik I.H. Rapid determination of reduced and oxidized glutathione levels using a new thiol-masking reagent and the enzymatic recycling method: Application to the rat liver and bile samples / I.H. Shaik, R. Mehvar // Anal. Bioanal. Chem. – 2006. – Vol. 385, N 1. – P.105–113.
212. Seifter S. The estimation of Glycogen with the Antron Reagent / S. Seifter // Arch. Biochem. – 1950. – Vol. 25, N 1. – P. 191–200.
213. Schneiderman N. Stress and health: psychological, behavioral, and biological determinants / N. Schneiderman, G. Ironson, S.D. Siegel // Annu Rev Clin Psychol. – 2005. – Vol. 1, N 1. – P. 607–628.
214. Seely D. Adaptogenic potential of a polyherbal natural health product: report on a longitudinal clinical trial / D. Seely, R. Singh // Evid Based Complement Alternat Med. – 2007. – Vol. 4, N 3. – P. 375–380.
215. Schmidt H.D. The role of neurotrophic factors in adult hippocampal neurogenesis, antidepressant treatments and animal models of depressive-like behavior / H.D. Schmidt, R.S. Duman // Behav. Pharmacol. – 2007. – Vol. 18, N 5-6. – P. 391–418.
216. Sarkar J. Neurosteroidogenesis is required for the physiological response to stress: role of neurosteroid-sensitive GABAA receptors / J. Sarkar, S. Wakefield, G. Mackenzie et al. // J. Neurosci. – 2011. – Vol. 31, N 50. – P. 18198–18210.
217. Sakac V. Free oxygen radicals and kidney diseases / V. Sakac, M. Sakac // Med. Pregl. – 2000. – Vol. 53, N 9-10. – P. 463–474.

218. Sreemantula S. Adaptogenic and nootropic activities of aqueous extract of *Vitis vinifera* (grape seed): an experimental study in rat model / S. Sreemantula, S. Nammi, R. Kolanukonda et al. // BMC Complement Altern Med. – 2005. – Vol. 19. – P. 155–162.

219. Schroepfer G.J.Jr. Oxysterols: modulators of cholesterol metabolism and other processes / G.J.Jr. Schroepfer // Physiological Reviews. – 2000. – Vol. 80, N 1. – P. 361–554.

220. Sloley B.D. Comparison of chemical components and antioxidant capacity of different Echinacea species / B.D. Sloley, L.J. Urichuk, C. Tywin et al. // J. Pharm. Pharmacol. – 2001. – Vol. 53, N 6. – P. 849–857.

221. Shikov A.N. *Bergenia crassifolia* (L.) Fritsch pharmacology and phytochemistry / A.N. Shikov, O.N. Pozharitskaya, M.N. Makarova et al. // Phytomedicine. – 2014. – Vol. 21, N 12. – P. 1534–1542.

222. Shikov A.N. Medicinal plants of the Russian Pharmacopoeia; their history and applications / A.N. Shikov, O.N. Pozharitskaya, V.G. Makarov et al. // J Ethnopharmacol. – 2014. – Vol. 154, N 3. – P. 481–536.

223. Schulkin J. Allostasis, homeostasis and costs of physio logical adaptation / J. Schulkin // Cambridge, UK: Cambridge Univ. Press, 2004. – 372 p.

224. Thiem B. Ecdysteroids: production in plant in vitro cultures / B. Thiem, M. Kikowska, M. Maliński et al. // Phytochem Rev. – 2017. – Vol. 16, N 4. – P. 603–622.

225. Trendafilova A. Ultrasound-assisted extraction of alantolactone and isoalantolactone from Inula helenium roots / A. Trendafilova, C. Chanev, M.L Todorova // Pharmacogn. Mag. – 2010. – Vol. 6, N 23. – P. 234–237.

226. Toropova A.A. Antioxidant activity of adaptogenic plant remedy in model systems *in vitro* / A.A. Toropova, B.A. Muruev, Y.G. Razuvaeva et al. // Yakut Medical Journal. – 2019. –N 1 (65). – P. 20–23.

227. Ulrich-Lai Y.M. Neural regulation of endocrine and autonomic stress responses / Y.M. Ulrich-Lai, J.P. Herman // Nat. Rev. Neurosci. – 2009. – Vol. 10, N 6. – P. 397–409.

228. Valko M. Free radicals, metals and antioxidants in oxidative stress-induced cancer / M. Valko, C.J. Rhodes, J. Moncol, M. Izakovic, M. Mazur // Chem. Biol. Interact. – 2006. – Vol. 160, N 1. – P. 1–40.

229. Van Loon G. Adaptative mechanisms in the metenkephalin and catecholamine responses to repeated stress // G. Van Loon, S. Monsa, R. Kvetnansky // Clin. Res. – 1985. – Vol. 33. – P. 537–637.

230. Vyas S. Chronic Stress and Glucocorticoids: From Neuronal Plasticity to Neurodegeneration / S. Vyas, A.J. Rodrigues, J.M. Silva et al. // Neural. Plast. – 2016. – Vol. 2016. – P. 1–16.

231. Vertuani S. The antioxidants and proantioxidants network: an overview / S. Vertuani, A. Angusti, S. Manfredini // Curr. Pharm. Design. – 2004. – Vol. 10, N 14. – P. 1677–1694.

232. Walker F.R. Acute and chronic stress-induced disturbances of microglial plasticity, phenotype and function / F.R. Walker, M. Nilsson, K. Jones // Curr. Drug Targets. – 2013. – Vol. 14, N 11. – P. 1262–1276.

233. Wagner S. Redox regulation of sodium and calcium handling / S. Wagner, A.G. Rokita, M.E. Anderson, L.S. Maier // Antioxid Redox Signal. – 2013. – Vol. 18, N 9. – P. 1063–1077.

234. Wagner H. Synergy research: approaching a new generation of phytopharmaceuticals / H. Wagner, G. Ulrich-Merzenich // Phytomedicine. – 2009. – V.16 (2-3). – P. 97–110.

235. Wang L.C. Effect of ginseng saponins on cold tolerance in young and elderly rats / L.C. Wang, T.F. Lee // Planta Med. – 2000. – V.66. – P. 144–147.

236. Wang J. Ultrasound-assisted extraction of total flavonoids from *Inula helenium* / J. Wang, Y.M. Zhao, C.Y. Guo et al. // Pharmacogn. Mag. – 2012. – Vol. 8, N 30. – P. 166–170.

237. Yusuf J. Disturbances in calcium metabolism and cardiomyocyte necrosis: the role of calcitropic hormones / J. Yusuf, M.U. Khan, Y. Cheema, S.K. Bhattacharya, K.T. Weber // Prog. Cardiovasc. Dis. – 2012. – Vol. 55, N 1. – P. 77–83.

238. Zhang W.S. Protective effects of salidroside on injury induced by hypoxia/hypoglycemia in cultured neurons / W.S. Zhang, L.Q. Zhu, F.L. Niu et al. // Zhongguo Zhong Yao Za Zhi. – 2004. – V. 29, N 5. – P. 459–462.

239. Zhao Y. Study on the chemical components of the Inula helenium / Y. Zhao, M. Zhang,C. Huo,Y. Gu, Q. Shi // Tianran Chanwu Yanjiu Yu Kaifa. – 2009. – Vol. 21, N 4. – P. 616–618.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

АКТГ – адренокортикотропный гормон

АОК – антителообразующие клетки

АОС – антиоксидантная система

АТФ – аденозинтрифосфат

ВГ – восстановленный глутатион

ГК – глюкокортикоиды

ГГАКС – гипоталамо-гипофизарно-адренокортикальная система

ГЗТ – гиперчувствительность замедленного типа

ДНК – дезоксирибонуклеиновая кислота

ИФН – интесивные физические нагрузки

КФК – креатинфосфокиназа

ЛДГ – лактатдегидрогеназа

ЛПВП – липопротеины высокой плотности

ЛПНП – липопротеины низкой плотности

ЛЭЖ – левзеи экстракт жидкий

МДА – малоновый диальдегид

МК – молочная кислота

ПВК – пировиноградная кислота

ПКЛ – приподнятый крестообразный лабиринт

ПОЛ – перекисное окисление липидов

РНК – рибонуклеиновая кислота

РА – растительные адаптогены

СОД – супероксиддисмутаза

СРО – свободнорадикальное окисление

СНПС – состоянию неспецифической повышенной сопротивляемости

ЦНС – центральная нервная система

BDNF – нейротрофический фактор

CRH – кортикотропин-рилизинг-гормон